

**UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN ZUSAMMENHANG
ZWISCHEN VERÄNDERUNGEN VON
PROTEINFRAKTIONEN UND DER
KÄLTERESISTENZ BEI DER FICHTE**

Paul Ziegler

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN ZUSAMMENHANG ZWISCHEN
VERÄNDERUNGEN VON PROTEINFRAKTIONEN UND DER
KÄLTERESISTENZ BEI DER FICHTE

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
des
Fachbereichs Biologie
der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von:

Paul Ziegler

geboren in

Nairobi

August 1978

1. Berichterstatter: Prof.Dr.O.Kandler
2. Berichterstatter: Prof.Dr.W.Rau

Tag der mündlichen Prüfung: 12.12.1978



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
ABKÜRZUNGEN	1
1. EINLEITUNG	2
2. MATERIAL UND METHODEN	7
2.1. Untersuchungsmaterial	7
2.2. Versuchsanstellung	7
2.2.1. Natürlich variierende Photoperiode und Temperatur	8
2.2.2. Konstante Photoperiode bei natürlichem Temperaturgang	8
2.2.3. Konstante Photoperiode bei konstanter milder Temperatur	8
2.2.4. Programmierbare Photoperiode und Temperatur in der Klimakammer	9
2.3. Bestimmung der Kälteresistenz der Nadeln	9
2.3.1. Einfrieren der Triebe	10
2.3.2. Beurteilung der Vitalität der eingefrorenen Nadeln	10
2.3.2.1. Nach dem Tetrazolium-Verfahren	11
2.3.2.2. Nach der Abschätzung nekrotischer Gewebeschäden	11
2.3.3. Einfluß der Geschwindigkeit der Einfrierung und des Auftauens	12
2.4. Beschaffung und Vorbereitung des Nadelmaterials zur chemischen Analyse	14
2.4.1. Ernte der Nadeln	14
2.4.2. Vorbereitung der Nadeln zur Analyse	15
2.5. Analyse des Nadelstickstoffes	16
2.5.1. Trockengewichtsbestimmung	16
2.5.2. Gesamt-Stickstoff	16
2.5.3. Alkohollöslicher N	16
2.5.4. Boratlöslicher N	17
2.5.5. Stickstoffbestimmung	19
2.5.5.1. Nach der Mikrokjeldahlmethode	19
2.5.5.2. Nach der Ultramikromethode	20

	Seite
2.6. Messung des Einbaus von Leucin in die boratlöslichen Proteine	21
3. ERGEBNISSE	23
3.1. Vorversuche zur Änderung der N-Fractionen und der Kälteresistenz	23
3.1.1. Bei natürlich variierender Photoperiode und Temperatur	23
3.1.2. Bei konstanter Photoperiode und natürlichem Temperaturgang	25
3.1.3. Bei Enthärtung unter verschiedenen photoperiodischen Bedingungen	27
3.2. Korrelation zwischen Änderungen der N-Fractionen und der Kälteresistenz in Abhängigkeit von Photoperiode und Temperatur	30
3.2.1. Abhängigkeit von der Jahreszeit: Jahresgang bei natürlich variierender Photoperiode und Temperatur	30
3.2.1.1. Kälteresistenz	36
3.2.1.2. Gesamt-N	37
3.2.1.3. Alkohollöslicher N	38
3.2.1.4. Boratlöslicher Protein-N	38
3.2.1.5. Einbau von Leucin in die boratlösliche Proteinfraktion	40
3.2.1.6. Austrieb	41
3.2.2. Abhängigkeit von der Photoperiode: Jahresgang unter konstanter Photoperiode bei natürlichem Temperaturgang	42
3.2.2.1. Kälteresistenz	48
3.2.2.2. Gesamt-N	49
3.2.2.3. Alkohollöslicher N	50
3.2.2.4. Boratlöslicher Protein-N	50
3.2.2.5. Einbau von Leucin in die boratlösliche Proteinfraktion	52
3.2.2.6. Austrieb	52

	Seite
3.2.3. Abhängigkeit von der Photoperiode: Jahresgang bei konstanter Photoperiode und konstanter Temperatur von 20°C	53
3.2.3.1. Kälteresistenz	53
3.2.3.2. Gesamt-N und alkohollöslicher N	57
3.2.3.3. Boratlöslicher Protein-N	58
3.2.3.4. Austrieb	59
3.2.4. Abhängigkeit von der Photoperiode bei Kältung und Verwöhnung	60
3.2.4.1. Kältung der Bäume der Serien I und II	60
3.2.4.1.1. Kälteresistenz	61
3.2.4.1.2. Gesamt-N und alkohollöslicher N	65
3.2.4.1.3. Boratlöslicher Protein-N	65
3.2.4.2. Verwöhnung der Bäume der Serien I und II	66
3.2.4.2.1. Kälteresistenz	67
3.2.4.2.2. Gesamt-N und alkohollöslicher N	71
3.2.4.2.3. Boratlöslicher Protein-N	71
3.2.4.2.4. Austrieb	72
3.2.4.3. Verwöhnung und anschließende Kältung der Bäume der Serie III	73
3.2.4.3.1. Kälteresistenz	74
3.2.4.3.2. Gesamt-N	78
3.2.4.3.3. Boratlöslicher Protein-N	78
3.2.4.3.4. Einbau von Leucin in die boratlösliche Proteinfraktion	79
3.2.4.3.5. Austrieb	81
3.3. Einfluß von Kälte auf die boratlösliche Proteinfraktion	82
3.3.1. Einfluß des Einfrierens des Boratpufferhomogenats vor der Extraktion	82
3.3.2. Einfluß der Temperatur und der Dauer des Einfrierens der Nadeln	84
3.3.3. Einfluß von Kälte auf die boratlösliche Proteinfraktion isolierter Fichtenchloroplasten	85

3.3.4.	Kältedenaturierung des ausgefällten boratlöslichen Proteins	88
3.3.5.	Einfluß von Kälte auf die boratlösliche Proteinfraktion der Gewebe anderer Arten	93
4.	DISKUSSION	95
5.	ZUSAMMENFASSUNG	100
6.	LITERATURVERZEICHNIS	103
7.	APPENDIX: Darstellung der Ergebnisse der einzelnen Bäume der Kältungs- und Verwöh- nungsversuche	110

ABKÜRZUNGEN

LT	Langtag
KT	Kurztag
NA	Natürlich variierende Photoperiode und Temperatur
LTA	Konstanter Langtag bei natürlichem Temperaturgang
KTA	Konstanter Kurztag bei natürlichem Temperaturgang
LTI	Konstanter Langtag bei konstanter, milder Temperatur
KTI	Konstanter Kurztag bei konstanter, milder Temperatur
N	Stickstoff
N _G	Gesamtstickstoff
N _{AL}	Alkohollöslicher Stickstoff
N _{BL}	Boratlöslicher Stickstoff
N _{BLP}	Boratlöslicher Proteinstickstoff

EINLEITUNG

Das seit langem bekannte Phänomen der Kälteresistenz höherer Pflanzen ist seit mehr als einem Jahrhundert Gegenstand zahlreicher Versuche gewesen. Aus neuerer Zeit liegen u.a. von PARKER (1963), LEVITT (1966), OLIE (1967), MAZUR (1969), WEISER (1970), ALDEN und HERMANN (1971), LARCHER et al. (1973) und BURKE et al. (1976) Zusammenfassungen und kritische Betrachtungen der Ergebnisse vor. Es hat sich ein umfangreiches Tatsachenmaterial und viele Hinweise auf Korrelation der Frostresistenz mit verschiedenen cytologischen, physiologischen und biochemischen Veränderungen pflanzlicher Zellen und Gewebe ergeben. Die als parallel mit der Kälteresistenz bekannten Änderungen umfassen physikalische, chemische und funktionelle Eigenschaften von Enzymen und Membranen, den Aufbau und die Funktion von Chloroplasten und Zellkern und den Gehalt an verschiedensten Verbindungen wie Kohlenhydrate (Zucker und ihre Derivate), Aminosäuren, lösliche Proteine, Nucleinsäuren und Lipide (gute Übersicht bei ALDEN und HERMANN 1971 und HEBER und SANTARIUS 1973).

Eine der am längsten bekannten Korrelationen zur Frostresistenz besteht mit der Zunahme von löslichem Protein bei Abhärtung. Nach mehreren wenig überzeugenden frühen Versuchen, Änderungen im Proteinstickstoff mit der Kälteresistenz in Beziehung zu bringen (siehe LEVITT 1956), konnten SIMINOVITCH und BRIGGS (1949, 1953) eine eindeutige Zunahme in der Konzentration von wasserlöslichem Protein in der Rinde von Robinia pseudoacaccia im Herbst zusammen mit der Entwicklung von Frostresistenz sowie eine Abnahme bei Enthärtung im Frühjahr feststellen. Korrelationen zwischen Frostresistenz und dem Gehalt an

löslichem Protein sind auch für einige krautige Nutzpflanzen wie Weizen (VASIL'YEV et al. 1964) und Luzerne (JUNG et al. 1967; GERLOFF et al. 1967) sowie für die Rinde und die Nadeln von Pinus resinosa (POMEROY et al. 1970) bekannt (siehe auch die Gesamtproteinzunahme für die Rinde von Cornus stolonifera (LI et al. 1965, 1966); vom Fehlen einer solchen Beziehung ist aber auch berichtet worden (PARKER 1962, für Efeu).

Ferner weisen einige elektrophoretische Untersuchungen auf quantitative Änderungen löslicher Proteine während der Frosthärtung hin (BRIGGS und SIMINOVITCH 1949 für die Rinde von Robinia pseudoacaccia; COLEMAN et al. 1966 für Luzerne; CRAKER et al. 1969 für das Laub des Lebensbaumes). Die Ergebnisse vieler Untersuchungen deuten darauf hin, daß die beobachtete Zunahme des Gehaltes an löslichem Protein bei der Abhärtung ihre Ursache in Proteinsynthese hat (z.B. SIMINOVITCH und CHATER 1958; KOHN und LEVITT 1966; POMEROY et al. 1970), obwohl auch berichtet wird, daß eine Umwandlung schon vorhandener Proteine dem Phänomen zugrunde liegt (DROZDOV und SCYCHEVA 1965; HEBER 1959). Direktes Beweismaterial für eine potentielle Bedeutung von löslichen Proteinen für die Frostresistenz wurde durch den Nachweis geliefert, daß lösliche Proteine aus frostharten Blättern von Spinat und Gerste sowie Pappelrinde die isolierten Thylakoiden von Spinatchloroplasten gegen Frostschäden schützen konnten (HEBER und ERNST 1967; HEBER und KEMPLE 1970; VOLGER und HEBER 1975). Die Schutzwirkung dieser Proteine übertraf bei weitem die gut bekannte diesbezügliche Wirkung von niedermolekularen Kohlenhydraten. Es scheint also, daß lösliche Proteine eine wichtige Rolle bei der Kälteresistenz spielen könnten.

Das Bestehen einer Korrelation zwischen einer biochemischen Veränderung und der Kälteresistenz besagt aber nicht, daß diese Veränderung tatsächlich mit der Resistenz ursächlich verbunden ist. Diesbezüglich kann die Feststellung aufschlußreich sein, ob die beobachtete Veränderung gleichartig mit der Kälteresistenz gesteuert wird. Der Eintritt der Winterruhe war beispielsweise lange Zeit als notwendige Voraussetzung der Frostresistenz betrachtet worden (siehe z.B. TUMANOV et al. 1965). IRVING und LANPHEAR (1967) konnten jedoch zeigen, daß die Steuerung der beiden Phänomene durch Photoperiode und Kälteeinwirkung unterschiedlich ist und daß diese Phänomene durch geeignete Kombination dieser beiden Faktoren voneinander trennbar sind.

Wodurch wird also die Kälteresistenz und eventuell damit zusammenhängende biochemische Veränderungen gesteuert? Die Frosthärte einer Pflanze ist ein vorübergehender Zustand, dessen Ausdruck von der spezifischen Härtungskapazität der Pflanze und den Umweltsverhältnissen bestimmt wird. Der jahreszeitliche Verlauf der Kälteresistenz der zur Frosthärtung befähigten Pflanzen folgt im wesentlichen dem Rhythmus von Entwicklung und Aktivität der Pflanze, der wiederum durch sowohl endogene Reize wie auch durch Umweltfaktoren reguliert ist (LARCHER 1973).

Licht und Temperatur sind die nächstliegenden Umweltfaktoren, die die Kälteresistenz steuern, obwohl andere Faktoren wie Ernährung und Bodenwasser eine Rolle spielen können. Niedrige Temperatur ist wohl der Hauptfaktor, ohne den maximale Frosthärte nicht erreicht wird. Kälte fördert die Entwicklung von Kälteresistenz; hohe Temperaturen verursachen dagegen den Verlust dieser Eigenschaft bei abgehärteten Pflanzen. Licht spielt auch oft eine wichtige Rolle, die zum Teil einen photosynthetischen, zum Teil einen photoperiodischen Charakter hat:

Vor allem die induzierende Wirkung von Kurztagbedingungen ist ausführlich dokumentiert. Manche Arten brauchen Kurztag zur Härtung, andere benötigen nur niedrige Temperaturen. Die Wirkung von Licht und Temperatur auf die Entwicklung und Aktivität der Pflanze liegt auch der endogenen, hormonellen Komponente der Kälteresistenzsteuerung zugrunde, die auch experimentell beeinflusst werden kann (für Übersicht siehe ALDEN und HERMANN 1971 sowie WEISER 1970).

Es ist einleuchtend, daß die Entwicklung von Frosthärte in Klimazonen mit großer Variation in der Tageslänge photoperiodisch reguliert wird. Die immer kürzer werdenden Tage sowie die allmählich sinkenden Temperaturen, induzieren den Vorgang der Härtung, die dann durch das Auftreten niedriger (Frost-) Temperaturen vervollständigt wird (Schema der Frosthärtung als ein Phasenvorgang in LARCHER 1973). Während der Enthärtung im Frühjahr werden die Vorgänge, die im Herbst zur Abhärtung geführt hatten, rückgängig gemacht. Hierzu wirken die zunehmenden Temperaturen induzierend.

Angesichts des bisherigen Wissensstandes schien es sinnvoll, der von POMEROY et al. (1970) berichteten, besonders eindrucksvollen Korrelation zwischen den quantitativen Änderungen der boratlöslichen Proteinfraction der Borke und der Nadeln von Pinus resinosa und dem Jahresgang der Kälteresistenz dieser Nadeln im Sinne der Aufklärung der eventuellen gleichartigen Steuerung der beiden Phänomene durch Photoperiode und Temperatur nachzugehen. Da die genannte Studie die erste umfangreiche derartige Untersuchung an Koniferen darstellt, lag es zunächst auf der Hand, die Relevanz dieser Befunde hinsichtlich eines weiteren, in Mitteleuropa sehr verbreiteten und wirtschaftlich bedeutenden immergrünen Nadelbaumes - der Fichte - zu prüfen. Im Falle der Übereinstimmung der Verhältnisse wäre dann zu untersuchen, ob

die Änderungen der Proteinfraction durch verschiedene Kombination der steuernden Faktoren von den Änderungen der Kälteresistenz getrennt werden können. Zudem wären die vorläufigen Schritte von POMEROY et al. zur Untersuchung der Proteinsynthese mittels der Messung von Aminosäureeinbau in die untersuchte Proteinfraction (von Rindengewebe) auf die Untersuchung von Fichtennadeln zu übertragen und entsprechend durch Veränderung von Photoperiode und Temperatur auszudehnen. Eine Feststellung der gemeinsamen Steuerung der beiden Phänomene würde eine gute Ausgangsbasis für eine vertiefte biochemische Untersuchung der Rolle löslicher Proteine bei der Kälteresistenz schaffen.

Neben großen, freistehenden Bäumen verfügte das Botanische Institut der Universität München über zahlreiche kleine, eingetopfte Fichten. Ferner standen experimentelle Einrichtungen bereit, die das Behandeln dieser jungen Bäume mit verschiedenen Kombinationen von Photoperiode und Temperatur ermöglichten.

Die vorliegende Arbeit wurde durch das Schwerpunktprogramm "Biochemische Grundlagen ökologischer Anpassungen" der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt, in dessen Rahmen andere Mitarbeiter des Botanischen Instituts zum Teil parallel verlaufende Untersuchungen über den Kohlenhydratstoffwechsel der Nadeln und die Feinstruktur bzw. photochemische Eigenschaften der Chloroplasten der Fichte im Hinblick auf die Kälteresistenz durchführten. Die im folgenden berichteten Untersuchungen wurden am Botanischen Institut vom September 1974 bis Februar 1978 durchgeführt.

2. MATERIAL UND METHODEN

Die meisten verwendeten Chemikalien stammten von der Firma Merck (Darmstadt); sonstige Quellen werden angegeben.

2.1. Untersuchungsmaterial

Das Nadelmaterial für die Untersuchung der Fichte stammte entweder von einem etwa 60jährigen Baum im Freiland oder von etwa 5jährigen, 1 m hohen eingetopften Bäumen. Drei Gruppen der jungen Fichten waren zunächst auf einem Versuchsfeld des Botanischen Gartens, München, aufgestellt:

Serie I: Im September 1972 eingetopfte zweijährige Sämlinge

Serie II und III: Im April 1974 eingetopftes Klonmaterial von zwei verschiedenen Bäumen, das von Dr. KLEINSCHMIDT, Escherode, bezogen wurde.

Das Blatt- bzw. Rindengewebe anderer Arten für die vergleichenden Untersuchungen wurde vom Botanischen Garten oder vom Gewächshaus des Botanischen Instituts bezogen.

2.2. Versuchsanstellung

Zur Untersuchung der Verhältnisse bei Fichtennadeln unter natürlichen Umweltbedingungen wurden der 60jährige Baum und die jungen eingetopften Bäume auf dem Versuchsfeld (siehe 2.1., S. 7) herangezogen. Zur Analyse der Wirkung verschiedener Photoperioden und Temperaturverhältnisse wurden junge Bäume in entsprechende Bedingungen überführt. Es standen somit folgende Faktorenkombinationen zur Verfügung:

2.2.1. Natürlich variierende Photoperiode und Temperatur

Die normalen Freilandbedingungen, bezeichnet mit NA (= Normal-Außen). Die in Abb. 2 und Abb. 5-14 dargestellten Temperaturangaben der NA-Bedingungen (wobei jeweils die niedrigsten vorkommenden Temperaturen für jede Woche während der Versuchszeit wiedergegeben sind) sind für den nahegelegenen Flugplatz München-Riem und wurden den Berichten des DEUTSCHEN WETTERDIENSTES, Wetteramt München, entnommen.

2.2.2. Konstante Photoperiode bei natürlichem Temperaturgang

Für Langtagbedingungen bei natürlichen Außentemperaturen (LTA = Langtag-Außen) waren Leuchtstoffröhren (Osram "cool white") ca. 1,5 m über dem Boden angebracht, die in Höhe der Baumspitzen eine Lichtintensität von ca. 10.000 Lux erzeugten. Durch eine Schaltuhr gewährleistete diese Zusatzbeleuchtung, daß die Bäume ganzjährig von 4 Uhr morgens bis 20 Uhr abends beleuchtet wurden, was eine Lichtperiode von 16 Std. ergab.

Zur Herstellung von Kurztagbedingungen unter natürlichen Temperaturverhältnissen (KTA = Kurztag-Außen) wurden die Bäume auf einer fahrbaren Plattform aufgestellt, die von 17 Uhr nachmittags bis 8 Uhr morgens in einer verdunkelten, gut durchlüfteten Blechhütte untergebracht wurde, um eine Lichtperiode von 9 Std. zu gewährleisten.

Die Temperaturangaben für LTA- und KTA-Bedingungen in Abb. 10-14 sind identisch mit denjenigen für die entsprechenden NA-Bedingungen (2.2.1., S. 8).

2.2.3. Konstante Photoperiode bei konstanter milder Temperatur

In zwei Klimaräumen herrschten Dauerbedingungen von Lang- bzw. Kurztag bei gleichbleibender milder Temperatur (20°C) und 80 %iger Luftfeuchtigkeit. Die Bäume wur-

den durch in ca. 1 m Höhe angebrachte Leuchtstoffröhren (Osram "cool white") beleuchtet, wobei Schaltuhren für Photoperioden von 16 Std. (Langtag) bzw. 9 Std. (Kurztag) sorgten. Die Lichtintensität in Höhe der Baumspitzen betrug jeweils ca. 10.000 Lux. Diese Bedingungen wurden als LTI und KTI (Langtag- bzw. Kurztag-Innen) bezeichnet.

2.2.4. Programmierbare Photoperiode und Temperatur in der Klimakammer

Klimakammern der Firma Weiss, München (ohne Regulierung der Luftfeuchtigkeit, die bei Temperaturen unter 5°C 100 % und bei 20°C 80 % betrug) ermöglichten die Herstellung verschiedener Kombinationen von Photoperiode und Temperatur. In jeder der Kammern war ausreichend Platz für 5 der jungen eingetopften Bäume.

An den Decken der Kammern angebrachte Leuchtstoffröhren (Osram "cool white") erzeugten eine Lichtintensität in Höhe der Baumspitzen von ca. 10.000 Lux (Schwachlicht). Für Starklichtbedingungen (ca. 30.000 Lux) wurden Klimakammern mit Glasabdeckung verwendet, über denen Quecksilberhochdruckleuchten mit entsprechenden Reflektoren aufgehängt waren. Die Temperatur der durch einen Ventilator ständig umgewälzten Kammerluft war von -30°C bis +30°C stufenlos einstellbar. Schaltuhren mit entsprechend geschnittenen PVC-Programmscheiben ermöglichten den automatischen Ablauf von beliebigen Photoperioden- und Temperaturprogrammen.

2.3. Bestimmung der Kälteresistenz der Nadeln

Zur Kälteresistenzbestimmung wurden jeweils mehrere frisch entnommene, intakte Triebe des Testbaumes mit ein- und zweijährigen Nadeln bei verschiedenen Prüftemperaturen eingefroren. Nach einiger Zeit wurde die Vitalität der Nadeln der aufgetauten Zweige beurteilt.

2.3.1. Einfrieren der Triebe

Die Triebe wurden in einer Klimakammer (siehe 2.2.4., S. 9) bei Dauerlicht stufenweise eingefroren. Dieser Vorgang begann bei 0° , wenn die Umgebungstemperatur des Testbaumes zur selben Zeit 0° oder höher war, andernfalls jeweils bei der Umgebungstemperatur des Baumes. Die Temperaturregelung wurde alle 40 Min. auf die nächst tiefere Stufe verstellt. Nach jeweils 5-10 Min. war die neue Temperatur erreicht, der die Nadeln dann noch weitere 30-35 Min. ausgesetzt waren. Folgende Stufen wurden regelmäßig verwendet: 0° , $-2,5^{\circ}$, -5° , $-7,5^{\circ}$, -10° , -15° , -20° , -25° und -30°C ; gelegentlich wurde unter Verwendung einer Spezialtiefkühltruhe (Vötsch, Frommern) auch noch bei -40° , -50° , -60° , -70° und -80°C geprüft. Nach den 40 Min. wurde bei jeder Prüftemperatur jeweils ein Trieb der Klimakammer entnommen und zum Auftauen bei Zimmertemperatur kurz stehen gelassen.

2.3.2. Beurteilung der Vitalität der eingefrorenen Nadeln

Für die Vorversuche (bis August 1975) wurde die Vitalität der Nadeln an den bei verschiedenen tiefen Temperaturen eingefrorenen Trieben nach ihrem Auftauen nach dem Tetrazolium-Verfahren (für Überblick siehe LARCHER und Mitarbeiter 1969) bestimmt. Da dieses Verfahren sich als unzufriedenstellend (zu geringe Kälteresistenzwerte: siehe 3.1., S. 23) erwies und außerdem sehr zeitraubend war, wurde ab September 1975 die Vitalität aufgrund der Abschätzung nekrotischer Schäden der Nadeln am Sproß beurteilt (vgl. PISEK und SCHIESSL 1947 sowie PISEK und LARCHER 1955; LANGE 1961). Diese letztere Methode ergab zuverlässigere und besser reproduzierbare Kälteresistenzwerte, die mit den durch Messung des Chlorophyllabbaues ermittelten Werte für das gleiche Material von SENSER und BECK (1977) vergleichbar waren.

2.3.2.1. Nach dem Tetrazolium-Verfahren

Die Bestimmung beruht auf der Fähigkeit lebendiger Zellen, 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) zu rot gefärbtem Formazan zu reduzieren.

Drei Nadeln von jedem der eingefrorenen Triebe wurden unmittelbar nach dem Auftauen in ca. 3-4 mm lange Stücke querschnitt, die dann in 5 ml einer 1 %igen Lösung von TTC (EGA, Steinheim) eingelegt und 24 Std. bei 30° inkubiert wurden. Drei dieser Nadelstücke wurden dann zufallsmäßig der Lösung entnommen. Dünnschnitte wurden in einigem Abstand von der ursprünglichen Schnittfläche angefertigt und lichtmikroskopisch untersucht. Die Vitalität der Nadeln wurde nach dem Ausmaß der Rotfärbung des Gewebes im Nadelquerschnitt bewertet, wobei folgende Stufen unterschieden wurden: Eine Rotfärbung aller Zellen (+), eine Rotfärbung lediglich der Parenchym- und Geleitzellen der Leitbündel ((+)) und das Fehlen von Rotfärbung (-). Diejenige Temperatur, bei der sich noch mindestens zwei der drei untersuchten Nadelstücke als voll lebensfähig (+) erwiesen, wurde als Grenze der Kälteresistenz betrachtet und ist in den entsprechenden Abbildungen eingesetzt.

2.3.2.2. Nach der Abschätzung nekrotischer Gewebeschäden

Die aus der Gefrierkammer entnommenen Triebe wurden mit dem abgeschnittenen Ende in wassergefüllte Reagenzgläser eingestellt und in eine wasserdampfgesättigte, lichtdurchlässige Plexiglaskammer überführt. Nach einer Woche Aufenthalt (im Zweifelsfall nach noch längerer Zeit) bei Zimmertemperatur wurde die Vitalität der Nadeln aufgrund der Abschätzung ihrer Gewebeschäden beurteilt. Nadeln, die noch überwiegend kräftig grüngefärbt waren und ein gesundes Aussehen hatten, wurden als lebendig betrachtet. Nadeln, die bei überwiegender brauner Farbe deutlich nekrotische Stellen aufwiesen, wurden als tot bezeichnet.

Triebe eines Jahrganges, deren Nadeln vollständig überlebten, wurde die Bezeichnung + gegeben, und die, deren Nadelbestand zur Hälfte oder gänzlich tot waren, wurden mit (+) bzw. - bezeichnet. Zusätzliche Zwischenstufen wurden mit ⊕ notiert, wenn fast alle Nadeln am Trieb heil waren und mit ((+)), wenn nur noch vereinzelte lebende Nadeln vorhanden waren. Der Angabe der Kälteresistenz in den Tabellen und Abbildungen liegt folgende Regelung zugrunde:

- (a) Wenn die letzte Temperaturstufe vor den Stufen mit eindeutiger Abtötung (((+)) oder -) mit + oder ⊕ bezeichnet wurde, so entspricht diese Stufe der Grenze der Kälteresistenz.
- (b) Trat an der Grenze der Lebensfähigkeit die Zwischenstufe (+) auf, so wurde der Mittelwert zwischen der letzten eindeutig positiven und der eingeschränkt positiven Stufe als die Kälteresistenz eingesetzt.
- (c) Erstreckten sich die Übergangswerte (+) über mehrere Stufen, so wird als Kälteresistenz die Temperatur der vorletzten (+)-Stufe angegeben.

2.3.3. Einfluß der Geschwindigkeit der Einfrierung und des Auftauens

Frostschäden pflanzlicher Gewebe können von der Geschwindigkeit der Frostung und des anschließenden Erwärmens abhängig sein (siehe z.B. HEBER und SANTARIUS 1973). Daher wurde der Einfluß von sowohl der Erfrierungs- als auch der Auftaurate der Fichtennadeln auf die Kälteresistenzbestimmung geprüft. Es ist nicht zu erwarten, daß die Erwärmungsrate von eingefrorenen sehr kälteempfindlichen Nadeln einen großen Einfluß auf die Resistenzbestimmung hat, da der Kälteresistenzwert ohnehin nahe 0° ist. Deshalb wurden Triebe von verhältnismäßig stark bzw. mäßig frostharten Fichten verwendet.

Sie wurden auf verschiedene Temperaturen eingefroren und anschließend entweder wie üblich sofort in Zimmertemperatur überführt oder langsam ($2^{\circ}\text{C}/\text{Std.}$) in programmierten Klimakammern auf eine Temperatur von 15°C erwärmt. Um auch den Effekt des schnellen Einfrierens zu erfassen, wurden die Triebe entweder wie üblich langsam eingefroren oder direkt nach dem Abschneiden vom Baum in die Prüftemperatur überführt und dort 40 Min. belassen. Die Ergebnisse dieser vier Methoden mit 1975 gebildeten Nadeln der jungen Bäume der Gruppen II LTA und II KTI im Februar 1976 sind in Tab. 1 (S. 13) dargestellt.

Baumgruppe und Nadel- generation	Prüf-tempe- ratur	Vitalität der Nadeln 7 Tage nach dem Auftauen			
		1E, 1A	1E, sA	sE, 1A	sE, sA
II LTA 1975	-20°	+	+	+	+
	-25°	+	+	+	+
	-30°	+	+	(+)	+
	-40°	+	+	-	-
II KTI 1975	-5°	+	+	+	+
	-10°	+	+	+	+
	-15°	+	+	(+)	(+)
	-20°	(+)	-	-	-

Tab. 1. Der Einfluß von langsamer bzw. schneller Einfrierung (1E bzw. sE) und anschließendem langsamen bzw. schnellen Auftauen (1A bzw. sA) der Nadeln von gut und mäßig gehärteten jungen Bäumen im Februar 1976. Zur Bezeichnung der Vitalität der Nadeln siehe 2.3.2.2. (S. 11). Es ergaben sich daraus folgende Kälteresistenzwerte:

II LTA: 1E, 1A	-40°	II KTI: 1E, 1A	-18°
1E, sA	-40°	1E, sA	-15°
sE, 1A	-28°	sE, 1A	-13°
sE, sA	-30°	sE, sA	-13°

Die schnelle Einfrierung der Triebe ergab bei beiden Nadelgruppen niedrigere Kälteresistenzwerte als die langsame Frostung, wobei der Unterschied bei den frosthärteren II LTA-Nadeln größer war. Die Unterschiede im Kälteresistenzwert beim langsamen bzw. schnellen Auftauen waren nicht signifikant. Eine langsame Einfrierung wirkt also positiv auf den Kälteresistenzwert, während die Geschwindigkeit des Auftauens aber praktisch keine Rolle spielt. Das arbeitstechnisch viel günstigere schnelle Auftauen ist also gerechtfertigt.

2.4.

Beschaffung und Vorbereitung des Nadelmaterials zur chemischen Analyse

Die Nadeln zur chemischen Analyse wurden zur Vermeidung tageszeitlich bedingter Unterschiede am frühen Vormittag (zwischen 8 und 9 Uhr) geerntet, zur gleichen Zeit, zu der auch die Triebe zur parallel durchgeführten Bestimmung der Kälteresistenz entnommen wurden.

2.4.1.

Ernte der Nadeln

Die Nadeln wurden im Sammelprobeverfahren geerntet. Eine dadurch erzielte repräsentative Entnahme war nötig, da die N-Gehalte der Nadeln variierten, oft auch unter gleichen Außenbedingungen von Baum zu Baum bzw. von Ast zu Ast eines einzelnen Baumes. Sammelproben ermöglichten auch die Beschaffung gleichwertigen Nadelmaterials über längere Zeit von den hinsichtlich ihres Nadelbestandes beschränkten jungen eingetopften Bäumen.

Im Falle des 60jährigen Baumes wurde je ein gut entwickelter Zweig von 10 festgelegten, verschiedenen Ästen auf der Südseite des Baumes abgeschnitten und die Nadeln im Labor von den Trieben getrennt und vermischt.

Von den in den Jahresversuchen untersuchten jungen Bäumen wurden etwa gleichgroße Nadelportionen (jeweils 0,5 - 1 g, entsprechend mindestens 100 Nadeln) von jedem von 4 Einzelbäumen zu einer Sammelprobe vermischt. Bei den Bäumen der Serien I und II wurden die Nadeln von 10 verschiedenen, über den ganzen Kronenbereich verteilten Stellen jedes dieser einzelnen Bäume abgenommen. Bei den Bäumen der Serie III wurden analog 4 Triebe von jedem der Einzelbäume abgeschnitten und die Nadeln dann im Labor von den Zweigen getrennt.

Bei den in den Verwöhnungs- und Kältungsversuchen verwendeten jungen Einzelbäumen wurden die Nadeln von diesen einzelnen Bäumen in der gleichen Weise entnommen, wie sie von jedem der einzelnen Bäume bei den Jahresversuchen entnommen wurden.

2.4.2.

Vorbereitung der Nadeln zur Analyse

Die von den Zweigen abgetrennten und von etwaigen Rinde-
stücken befreiten Nadeln wurden möglichst rasch zur
weiteren Aufarbeitung vorbereitet; wo nötig (bei großen
Probezahlen) wurden sie zunächst bei 4°C im Kühlschrank
vorübergehend gelagert, wobei keine kurzfristigen Ver-
änderungen hinsichtlich der hier interessanten Eigen-
schaften festgestellt werden konnten. Nachdem die Nadeln
mit kaltem Leitungswasser gewaschen worden waren, wurde
das meiste anhaftende Wasser mit Filterpapier entfernt,
worauf sie noch etwa 10 Min. auf Filterpapier gestreut
bei Zimmertemperatur zur Abtrocknung stehengelassen wur-
den. Sie wurden dann zu den verschiedenen Bestimmungen
in kleine Reagenzgläser eingewogen.

Zu manchen Untersuchungen wurden die Nadeln sofort nach
dem Einwiegen weiter aufgearbeitet. Sonst wurden die Re-
agenzgläser mit Parafilm verschlossen und die Nadeln bis
zur Aufarbeitung bei -20°C eingefroren.

2.5. Analyse des Nadelstickstoffes

2.5.1. Trockengewichtsbestimmung

Weil der Wassergehalt der Nadeln schwankte (z.B. $\pm$ ca. 15 % des Jahresdurchschnitts unter Freilandbedingungen), wurden alle N-Gehalte zunächst auf die Trockensubstanz der Nadeln bezogen. Ca. 200 mg frisch geernteter Nadeln wurden 24 Std. bei 105°C getrocknet und nach Abkühlung in einem Exsikator wieder gewogen.

2.5.2. Gesamt-Stickstoff

Der Gesamt-N (N_G) der Nadeln wurde mit dem getrockneten Rest der Trockengewichtsbestimmung (ca. 100 mg Nadelmaterial) nach der Mikrokjeldahlmethode (siehe 2.5.5.1., S. 19) bestimmt. Die empfindlichere Ultramikromethode (siehe 2.5.5.2., S. 20) war für die N_G -Bestimmung nicht geeignet, da die dafür erforderlichen sehr kleinen Einwaagen (höchstens 15 mg Trockengewicht) zu großer Streuung der Werte führten.

2.5.3. Alkohollöslicher N

Der nicht-Protein lösliche N der Nadeln wurde mit 70 %igem Äthanol extrahiert und als N_{AL} (AL = alkohollöslich) bezeichnet.

Ursprüngliche Methode (bis August 1975)

Ca. 3 g (Frischgewicht) von bei -20°C eingefrorenen Nadeln wurden in einem Mörser mit flüssigem N zu einem feinen Pulver zerrieben. 0,5 g des gefrorenen Pulvers wurde eingewogen und (nach Aufbewahrung bei -20°C bis zur Extraktion) 10 Min. mit 10 ml 70 %igem Äthanol bei 60°C inkubiert. Der Rückstand nach Abzentrifugation wurde mit 5 ml Aceton kurz aufgeköcht (zur vollständigen Erfassung des Nadelchlorophylls) und erneut zweimal mit jeweils 10 ml 70 %igem Äthanol 10 Min. bei 60°C extrahiert. Die kombinierten Teilextrakte wurden 10 Min. bei

48.000 x g und 15°C abzentrifugiert und der Gesamtüberstand in einem Mikrokjeldahlkolben zur N-Bestimmung nach der Mikrokjeldahlmethode eingetrocknet.

Methode ab September 1975

Ca. 300 mg (Frischgewicht) von bei -20°C eingefrorenen Nadeln wurden bei Zimmertemperatur in einem Mörser mit 3 ml 70 %igem Äthanol und einer Spatelspitze Sand bis zur Homogenität zerrieben, mit weiteren 5 ml 70 %igem Äthanol in ein Extraktionsreagenzglas überführt und bis zur Extraktion bei -20°C aufbewahrt. Das Homogenat wurde dann 10 Min. bei 60°C inkubiert. Der nach Abzentrifugation verbleibende Rückstand wurde erneut mit 5 ml 70 %igem und schließlich mit 5 ml 20 %igem Äthanol (zur vollständigen Auswaschung der Aminosäuren) jeweils 10 Min. bei 48.000 x g und 15°C abzentrifugiert, und aliquote Teile von jeweils 2 ml des Gesamtextraktes wurden in Aufschlußreagenzgläsern zur N-Bestimmung nach der Ultramikromethode (siehe 2.5.5.2., S. 20) eingetrocknet.

Erschöpfende Extraktion mit 70 %igem Äthanol bei 60°C zeigte, daß beide Methoden mindestens 95 % des mit den verwendeten Lösungsmitteln extrahierbaren N erfaßten, wobei eine nur zweimalige Extraktion mit 70 %igem Äthanol zwischen 80 und 90 % des gesamten N_{AL} erfaßte. Die zweite Methode benötigte jedoch weniger Nadelmaterial und war arbeitstechnisch günstiger.

2.5.4.

Boratlöslicher N

Boratpuffer (0,05 M Na-Tetraborat-10-Hydrat, pH 9,8) wurde verwendet, um die löslichen Proteine der Nadeln zu extrahieren (siehe CRAKER et al. 1969 und POMEROY et al. 1970). Der N im Boratextrakt (N_{BL} : BL = boratlöslich) umfaßte aber auch nicht-Protein N-Verbindungen (siehe 2.5.3., S. 16: N_{AL}). Um den Gehalt an boratlöslichem Protein-N (N_{BLP}) zu erhalten, wurde daher der N_{AL} -Gehalt vom N_{BL} -Gehalt abgezogen:

$$N_{BLP} = N_{DL} - N_{AL}$$

N_{BLP} konnte auch direkt bestimmt werden, indem die im Boratextrakt enthaltenen Proteine mittels Ansäuerung des Extraktes (mit etwa Trichloressigsäure: vgl. 2.6., S.21 oder HCl: vgl. 3.3.4., S. 88) vollständig ausgefällt wurden und der N-Gehalt des sedimentierten Rückstandes gemessen wurde. Die Übereinstimmung des gemessenen N_{BLP} -Gehaltes nach der obigen Gleichung und nach der Fällungsmethode war sehr gut (zahlreiche Vergleiche zeigten Unterschiede bis nur etwa 5 %); die arbeitstechnisch erheblich günstigere erste Methode wurde infolgedessen bevorzugt.

Die Extraktion von sowohl dem alkohollöslichen N als auch dem boratlöslichen N aus ein und derselben Nadelinwaage, wie dies von POMEROY et al. (1970) für gefriergetrocknetes und gemahlenes Nadelmaterial von Pinus resinosa beschrieben wurde, war mit den nicht entwässerten Fichtennadeln nicht möglich, da aus den Rückständen der Alkoholextraktion (siehe 2.5.3., S. 16: auch wenn die Extraktionstemperatur wie bei POMEROY et al. nur 40° betrug) kein zusätzlicher N nach Inkubation mit Boratpuffer extrahierbar war. Die Boratextraktion mußte also an getrenntem Nadelmaterial ausgeführt werden.

Ursprüngliche Methode (bis August 1975)

Von der mit flüssigem N zerriebenen Nadelprobe für die Alkoholextraktion nach der ursprünglichen Methode (siehe 2.5.3., S. 16) wurden 0,5 g des gefrorenen Pulvers abgewogen und (nach Aufbewahrung bei -20° bis zur Extraktion) dreimal mit jeweils 10 ml Boratpuffer 15 Min. bei 30°C extrahiert. Die kombinierten Teilextrakte wurden anschließend 10 Min. bei 48.000 x g und 10° abzentrifugiert und der Überstand in einem Mikrokjeldahlkolben zur N-Bestimmung eingetrocknet.

Methode ab September 1975

Ca. 200 mg (Frischgewicht) von frisch gesammelten oder bei -20°C eingefrorenen Nadeln wurden bei Zimmertemperatur in einem Mörser mit 2 ml Boratpuffer und einer Spatelspitze Sand bis zur Homogenität zerrieben und mit weiteren 5 ml Puffer in ein Extraktionsreagenzglas überführt. Dieses Homogenat wurde nach dem Auftauen nach Zwischenlagerung bei -20°C (siehe auch 3.3.1., S. 82) 15 Min. bei 30°C inkubiert. Der nach Abzentrifugation verbleibende Rückstand wurde erneut zweimal mit jeweils 5 ml Puffer 15 Min. bei 30°C extrahiert, und die kombinierten Teilextrakte wurden 10 Min. bei $48.000 \times g$ und 10°C abzentrifugiert. Aliquote Teile von jeweils 1 ml des Gesamtextraktes wurden in Aufschlußreagenzgläsern zur N-Bestimmung nach der Ultramikromethode (siehe 3.5.5.2., S. 20) eingetrocknet.

Erschöpfende Extraktion mit Boratpuffer bei 30°C zeigte, daß beide Methoden mindestens 95 % des gesamtextrahierbaren N_{BL} erfaßten, während eine nur zweimalige Extraktion erst zwischen 75 und 80 % erfaßte. Die zweite Methode benötigte weniger Nadelmaterial und war arbeitstechnisch günstiger.

2.5.5. Stickstoffbestimmung

2.5.5.1. Nach der Mikrokjeldahlmethode

Die weit verbreitete Mikrokjeldahlmethode wurde für die Bestimmung größerer Mengen an N verwendet (N_{G} ; N_{AL} und N_{BL} bis August 1975: vgl. z.B. MILLER und HAUGHTON 1945). Getrocknete Nadeln bzw. eingetrocknete Alkohol- und Boratextrakte wurden in 50 ml Kjeldahlkolben mit einer Spatelspitze Katalysator (CuSO_4 und K_2SO_4 im Verhältnis 1:2) und 3 ml konz. H_2SO_4 in einem Heizgerät der Firma Electrothermal aufgeschlossen. Das entstehende Reaktions-

gemisch wurde unter mehrfacher Spülung mit dest. Wasser quantitativ in eine Wasserdampfdestillationsapparatur nach Parnas-Wagner überführt, mit ca. 12 ml 33 %iger NaOH versetzt und 7 Min. in eine Vorlage mit 5 ml gesättigter Borsäure und 5 Tropfen Mischindikator überdestilliert. In die Vorlage wurde mit 0,05 N HCl gegen eine Blindprobe zurücktitriert.

5.5.2. Nach der Ultramikromethode

Die empfindliche Ultramikromethode ist für die Untersuchung N-haltiger Lösungen gut geeignet. Die Bestimmung wurde in Anlehnung an die Methode von STRAUCH (1965) nach einer von Dr. M. ALCUBILLA (Institut für Bodenkunde der Universität München) vorgeschlagenen Abänderung durchgeführt. Getrocknete aliquote Teile der Borat- bzw. Alkoholextrakte oder flüssige aliquote Teile der Ameisensäurelösungen radioaktiv markierter Proteine wurden in Reagenzgläsern mit 0,4 ml des Aufschlußreagenzes (siehe STRAUCH 1965) beschickt und im Heizblock "Thermochem" der Firma Liebisch, Brackwede, aufgeschlossen. Das entstehende Reaktionsgemisch wurde mit 7 ml dest. Wasser versetzt und anschließend mit 2,8 ml eines frisch angesetzten modifizierten Nessler-Reagenz (Nesslers-Reagenz "A", Nessler-Reagenz "B", 0,6 N di-Natriumtartrat und eine 0,2 %ige Suspension von Gummi arabisch im Verhältnis 5:5:2:2) vermischt. Nach 30 Min. wurde die Extinktion des Reaktionsgemisches bei 500 bzw. 420 nm neben gleich behandelten Eichproben gemessen.

Die Verwendung von di-Natriumtartrat und der Gummisuspension verhindert eine durch Kationen hervorgerufene Trübung des nesslerisierten Reaktionsgemisches, die die Extinktionsmessung sonst erheblich stört (ALCUBILLA, persönliche Mitteilung).

2.6.

Messung des Einbaus von Leucin in die boratlöslichen Proteine

Um Neusynthese in der boratlöslichen Proteinfraction zu erfassen, wurde der Einbau von Leucin in das Protein dieser Fraction bestimmt, in Anlehnung an die Methode von POMEROY et al. (1970) für die Untersuchung von Kiefernborke.

Ca. 200 mg von 15-20 mm langen, frisch gesammelten Nadeln wurden in einer speziellen Aufnahmevorrichtung untergebracht (Abb. 1).

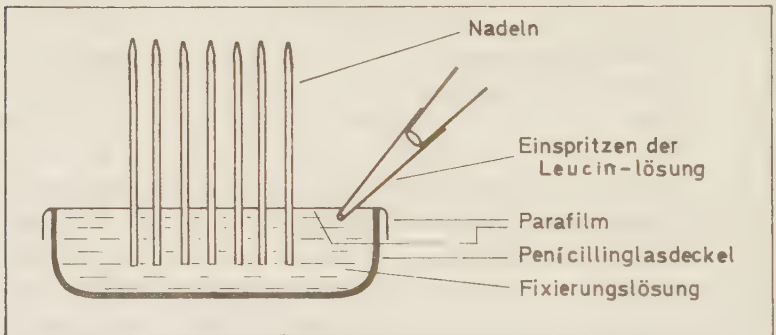


Abb. 1. Vorrichtung für die Aufnahme von radioaktiv markiertem Leucin durch Fichtennadeln. Die abgeschnittenen Nadelenden wurden zunächst durch Parafilm gestochen, der dann über den Penicillinglas-Deckel gespannt und abgedichtet wurde.

In die Flüssigkeitskammer wurden 2,2 ml einer Lösung von L-Leucin-1-¹⁴C (New England Nuclear Chemicals, Boston, USA: 0,5 μ Ci/ml) in 0,01 M Phosphatpuffer, pH 7,8 eingespritzt, die 4 μ g Tetracyclin/ml als Bakteriostatikum enthielt. Die Nadeln wurden dann 24 Std. bei 20°C und Dauerlicht (10.000 Lux) inkubiert. Anschließend wurden sie entnommen, mit Boratpuffer zerrieben und extrahiert, wie in 2.5.4. (Methode ab September 1975: S. 19) beschrieben. Die radioaktiv markierten Proteine von 10 ml

des Boratextraktes wurden mit 1,8 ml 50 %iger Trichlor-
essigsäure (Endkonzentration 7,5 %) gefällt. Der Nieder-
schlag wurde mit kalter 7,5 %iger Trichloressigsäure,
Äthanol/Äther 3:1 und schließlich Äther gewaschen, um
nicht-Protein lösliche, eventuell radioaktiv markierte
Verbindungen wie Aminosäuren, Stärke und Lipide zu ent-
fernen. Der getrocknete Rückstand wurde in 2 ml Ameisen-
säure gelöst. Die Radioaktivität von 100 μ l der Protein-
lösung wurde in einem Flüssigkeitszintillationszähler
Beckman LS-230 gemessen, und der N-Gehalt von 0,5 ml wurde
nach der Ultramikromethode (siehe 2.5.5.2., S. 20) be-
stimmt.

3. ERGEBNISSE

3.1. Vorversuche zur Änderung der N-Fractionen und der Kälteresistenz

Um erste Aufschlüsse über mögliche Änderungen der verschiedenen N-Fraktion von Fichtennadeln unter natürlichen und künstlichen Bedingungen von Photoperiode und Temperatur, die eventuell mit entsprechenden Änderungen der Kälteresistenz korreliert sind, zu erhalten, wurden die folgend beschriebenen Vorversuche mit dem 60jährigen Baum und mit jungen Bäumen der Serie I von Oktober 1974 bis Juli 1975 durchgeführt. Kälteresistenz wurde nach dem Tetrazolium-Verfahren (siehe 2.3.2.1., S. 11) bestimmt, das sich in früheren Untersuchungen an unserem Labor als eine brauchbare Methode zur Untersuchung der Nadeln junger Fichten erwiesen hatte. Die Nadeln wurden nach den ursprünglichen Methoden zur Alkohol- und Boratextraktion (siehe 2.5.3. und 2.5.4., S. 16 bzw. S. 18) aufgearbeitet.

In den graphischen Darstellungen werden die Kälteresistenz und die Gehalte an N_G , N_{AL} und N_{EL} in mg N/g Trockensubstanz der Nadeln zu den Zeiten der Nadelentnahmen angegeben. Die Gehalte an N_{AL} und N_{BLP} werden auch in % des N_G dargestellt. Der N-Gehalt wird positiv, die Kälteresistenz negativ angetragen.

3.1.1. Bei natürlich variierender Photoperiode und Temperatur

Um die jahreszeitlichen Änderungen der N-Fractionen und der Kälteresistenz von Fichtennadeln unter natürlichen Außenbedingungen zu erfassen, wurde der 60jährige Baum regelmäßig von Oktober 1974 bis Juli 1975 untersucht. Die Ergebnisse sind in Abb. 2 (S. 24) dargestellt.

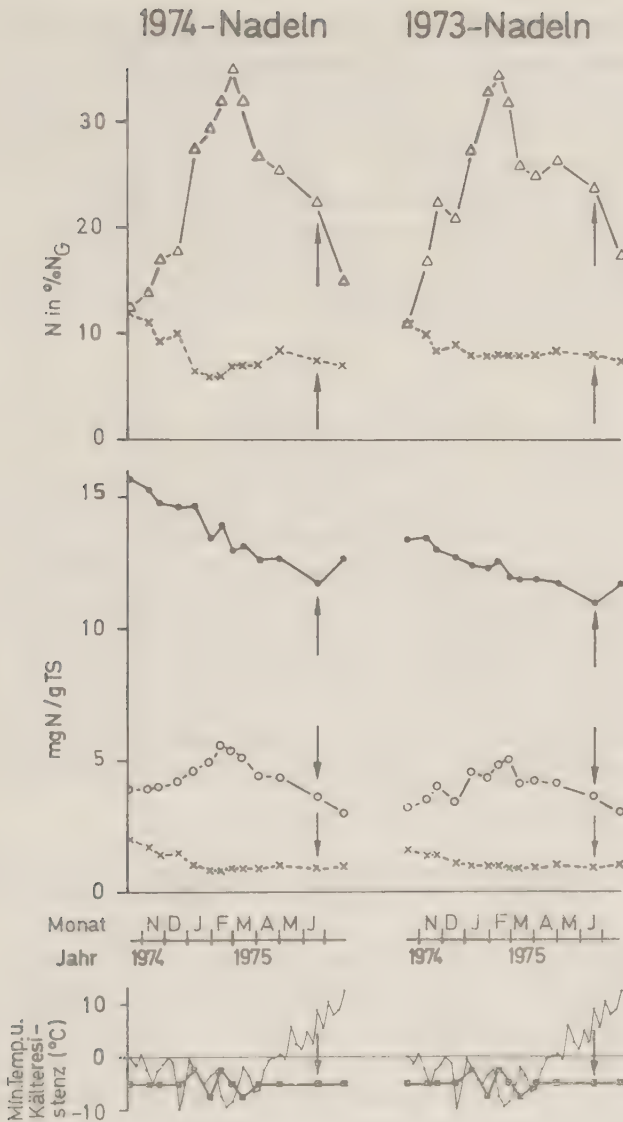


Abb. 2. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln des 60jährigen Baumes vom 16.10.1974 bis 22.7.1975. $\bullet$ — $\bullet$: N_G , $\times$ — $\times$: N_{AL} , $\circ$ — $\circ$ und Δ — Δ : N_{BL} bzw. N_{BLP} , $\blacksquare$ — $\blacksquare$: Kälteresistenz, — : Wöchentliche Minimumtemperatur, $\uparrow$: Zeitpunkt des Austriebs.

Überraschenderweise konnte kein Jahresgang der Kälteresistenz beobachtet werden. Obwohl der Winter 1974/75 verhältnismäßig mild war, ist es angesichts der auftretenden Fröste von immerhin -10°C und der bekanntlich stark ausgeprägten winterlichen Kälteresistenz der Fichte sehr unwahrscheinlich, daß die angegebenen Werte der tatsächlichen Kälteresistenz entsprechen. Das Tetrazolium-Verfahren war in der angewendeten Form offenbar zur Bestimmung der Kälteresistenz der Nadeln dieses ausgewachsenen Baumes ungeeignet.

Der N_G -Gehalt der Nadeln nahm während der Versuchszeit kontinuierlich ab. Der N_{AL} -Gehalt wies vor allem bei den jüngeren Nadeln eine geringe Abnahme im Herbst und Zunahme im Frühjahr auf. Der N_{BLP} -Gehalt der Nadeln zeigte dagegen besonders in Bezug auf N_G einen ausgeprägten, zyklischen Jahresgang, wobei eine Abnahme im Frühjahr/Sommer sich an eine Zunahme im Herbst/Winter anschloß. Diese Entwicklung verlief im wesentlichen parallel zum bekannten, üblichen Jahresgang der Kälteresistenz der Fichte (vgl. z.B. PISEK und SCHIESSL 1947) und deutet darauf hin, daß der Jahresgang des N_{BLP} -Gehaltes von Fichtennadeln unter normalen Außenbedingungen tatsächlich mit dem der Kälteresistenz korreliert ist.

3.1.2. Bei konstanter Photoperiode und natürlichem Temperaturgang

Um zu prüfen, ob die N-Fractionen von Fichtennadeln photoperiodisch bedingte Unterschiede im Jahresgang bei natürlicher Außentemperatur aufweisen, wurden unter LTA- und KTA-Bedingungen (siehe 2.2.2., S. 8) stehende junge Bäume der Serie I im Spätherbst und -winter und im darauffolgenden Sommer untersucht. Die Ergebnisse sind in Abb. 3 (S. 26) dargestellt.

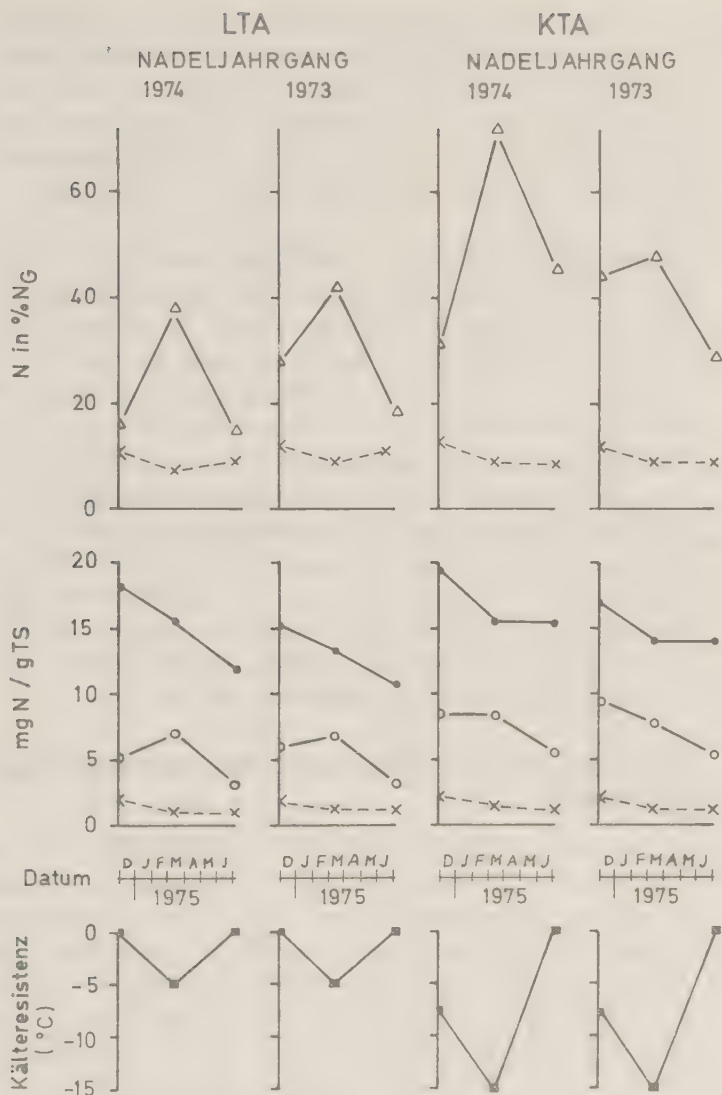


Abb. 3. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln der jungen Bäume der Serie I unter LTA- und KTA-Bedingungen von Ende November 1974 bis Anfang Juli 1975. ●—● : N_G , x-----x : N_{AL} , ○—○ und Δ—Δ : N_{BL} bzw. N_{BLP} , ■—■ : Kälteresistenz.

Die Kälteresistenzwerte zeigen eine Abhängigkeit von der Jahreszeit und bringen auch die bekannte besser fördernde Wirkung von KT- gegenüber LT-Bedingungen auf die Kälteresistenz zum Ausdruck. Sie sind aber sicher zu niedrig (vgl. 3.1.1., S. 23): Die Bestimmungsmethode war also auch hier nicht optimal.

Der N_G -Gehalt der Nadeln fiel wie beim 60jährigen Baum im Laufe der Versuchszeit ab (bei den KTA-Bäumen allerdings nur während des Winters). Der N_{AL} -Gehalt zeigte nur kleine Änderungen. Die N_{BLP} -Werte weisen auf das Vorkommen eines zyklischen Jahresganges des Gehaltes an löslichen Proteinen der Nadeln hin, wie dies beim 60jährigen Baum festgestellt wurde, wobei die Werte für KTA- höher als für LTA-Bedingungen liegen und zum Teil auch erheblich größere Änderungen zeigen. Die jahreszeitlichen Änderungen im N_{BLP} -Gehalt zeigen somit eine Korrelation mit denen der Kälteresistenz, wobei die unterschiedliche Wirkung der konstanten LT- und KT- Photoperioden auf die Kälteresistenz teilweise auch in den N_{BLP} -Werten widerspiegelt werden.

3.1.3. Bei Enthärtung unter verschiedenen photoperiodischen Bedingungen

Um zu prüfen, ob die durch künstliche Verwöhnung unter verschiedenen photoperiodischen Bedingungen zu erwartenden Kälteresistenzänderungen bei Fichtennadeln auch von entsprechenden Änderungen der N-Fractionen begleitet werden, wurden unter LTA- und KTA-Bedingungen (siehe 2.2.2., S. 8) stehende junge Bäume der Serie I im Frühwinter in die warmen (20°C) LT- und KT-Klimaräume (siehe 2.2.3., S. 8) überführt und dort behalten.

Abb. 4 (S. 29) zeigt, daß die anfangs sicher zu niedrigen (vgl. 3.1.2., S. 24) Kälteresistenzwerte aller in die LTI-Bedingungen überführten Bäume auf 0° blieben oder auf dieses Niveau zurückfielen und keine erneute Zunahme zeigten. Bei der Überführung in die KTI-Bedingungen blieb die Kälteresistenz zunächst ebenfalls bei 0° bzw. fiel auf diesen Wert zurück; nach einigen Monaten wurde aber unter diesen Bedingungen eine Kälteresistenzsteigerung beobachtet. Die bekannte enthärtende Wirkung milder Temperaturen und die rein photoperiodisch bedingte resistenzinduzierende Wirkung von KT-Bedingungen wurden somit nachgewiesen.

Der N_G -Gehalt der Nadeln nahm bei der Verwöhnung zunächst ab; diese Entwicklung wurde aber später in den meisten Fällen wieder aufgehoben und schließlich auch rückgängig gemacht. Der N_{AL} -Gehalt nahm in allen Fällen mit der Zeit geringfügig ab. In der Regel nahm der prozentuale N_{BLP} -Gehalt nach der Überführung in die Wärme mehr oder minder stark ab, und nahm nur in den KTI-Bedingungen wieder signifikant zu; seine Änderungen deuten somit durchwegs auf eine ausgesprochene Korrelation mit denen der Kälteresistenz hin. Diese Korrelation scheint offenbar auch bei drastischem Temperaturwechsel und künstlicher Photoperiodenkombination beständig zu sein.

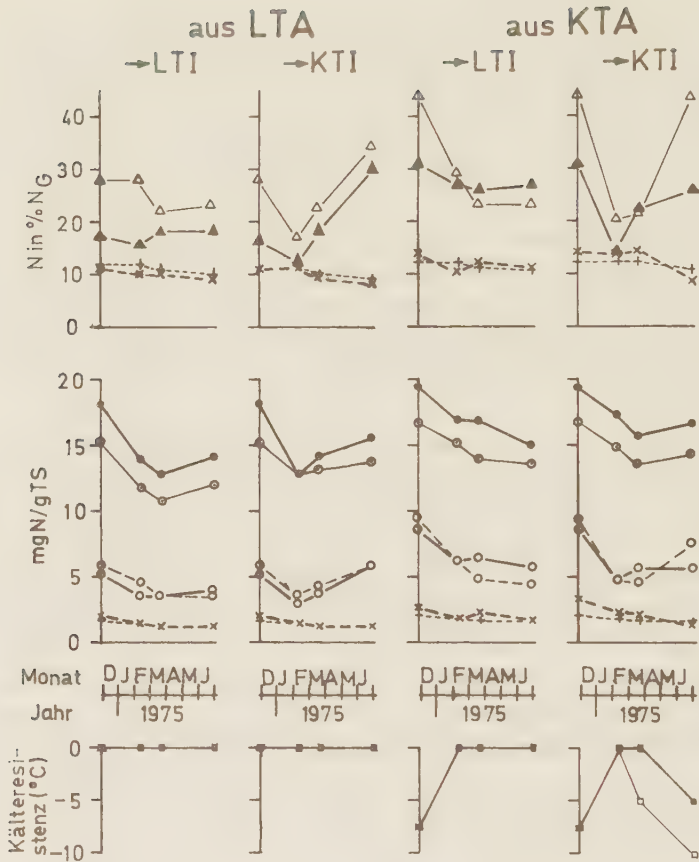


Abb. 4. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln der jungen Bäume der Serie I, die Anfang Dezember 1974 aus LTA- und KTA-Bedingungen in LTI- und KTI-Bedingungen überführt und dort belassen wurden. Die angegebenen Anfangswerte wurden kurz vor der Überführung ermittelt. Bezeichnung der N-Frak-tionen und der Kälteresistenz der 1974 gebildeten Nadeln (in Klammern die der 1973 gebildeten Nadeln): N_G : ●—● (○—○), N_{AL} : x---x (+----+), N_{BL} : ○—○ (○—○), N_{BLP} : ▲—▲ (△—△), Kälteresistenz: ■—■ (□—□).

2.

Korrelation zwischen Änderungen der N-Fractionen und der Kälteresistenz in Abhängigkeit von Photoperiode und Temperatur

Nach den positiven Vorversuchen wurden mit besser angepaßter Methodik ausführliche Versuche mit Nadeln sowohl des 60jährigen Baumes als auch der eingetopften Jungbäume durchgeführt.

2.1.

Abhängigkeit von der Jahreszeit: Jahresgang bei natürlich variierender Photoperiode und Temperatur

Die 1975 und 1974 gebildeten Nadeln des 60jährigen Baumes und der Gruppen INA und IINA der jungen Bäume wurden von Anfang September 1975 bis Anfang August 1976 regelmäßig untersucht, die 1976 gebildeten Nadeln der III NA-Bäume von Mitte September 1976 bis Anfang Dezember 1977. Zu Beginn der jeweiligen Untersuchungen waren die jungen Bäume seit drei Jahren (I NA), 18 Monaten (II NA) bzw. 30 Monaten (III NA) unter den natürlichen klimatischen Bedingungen eines Versuchsfeldes des Botanischen Gartens gestanden.

In allen Fällen wurden die Kälteresistenz und die N_G -Fraktion der Nadeln, sowie die N_{AL} - und N_{BL} -Fraktionen der Nadeln nach deren Einfrieren parallel untersucht. Bei der Untersuchung der III NA-Bäume wurde zusätzlich die N_{BL} -Fraktion der frisch geernteten, nicht eingefrorenen Nadeln, sowie die Einbaurate von Leucin in die löslichen Proteine dieser Fraktion bestimmt.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den Abb. 5 bis 9 (S. 31 bis 35) dargestellt.

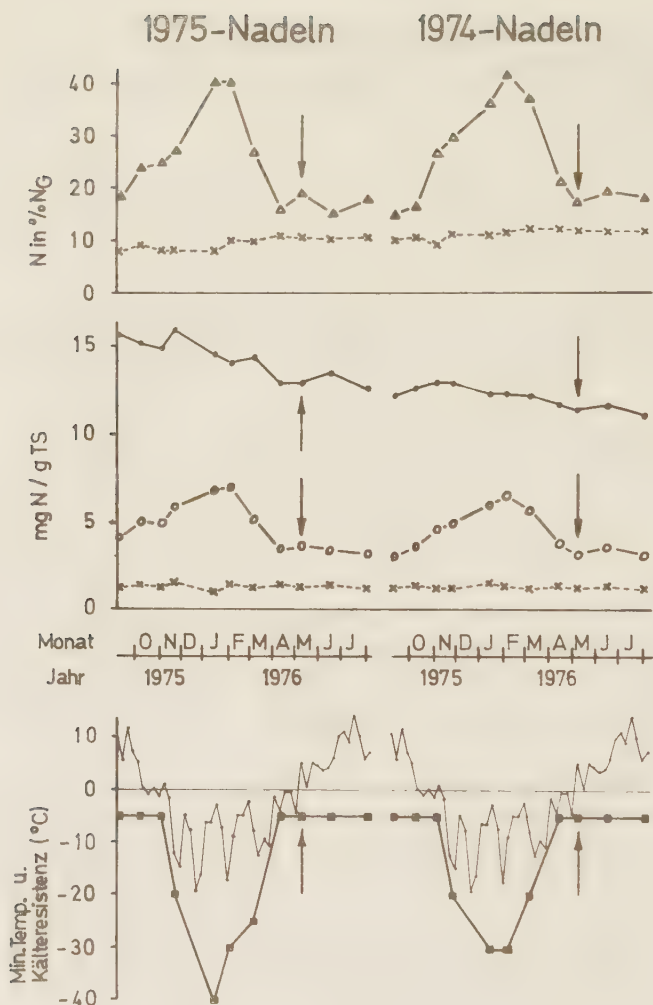


Abb. 5. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln des 60jährigen Baumes vom 11.9.1975 bis 6.8.1976.

—●— : N_G , x-----x : N_{AL} , o—o—o und Δ—Δ—Δ : N_{BL}
 bzw. N_{BLP} der eingefrorenen Nadeln, ■—■—■ : Kälte-
 resistenz, ——— : Wöchentliche Minimumtemperatur,
 ↑ : Zeitpunkt des Austriebs.

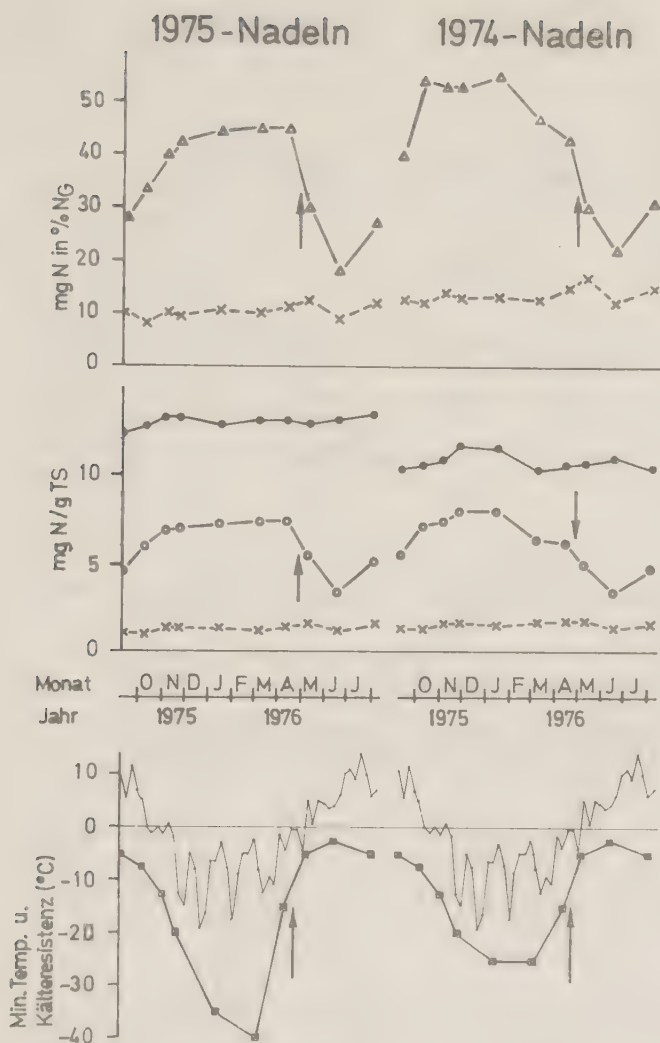


Abb. 6. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln der jungen Bäume der Gruppe I NA vom 11.9.1975 bis 6.8.1976.

●—● : N_G , x—x—x : N_{AL} , o—o und Δ—Δ : N_{BL} bzw. N_{BLP} der eingefrorenen Nadeln, ■—■ : Kälteresistenz, — : Wöchentliche Minimumtemperatur, ↑ : Zeitpunkt des Austriebs.

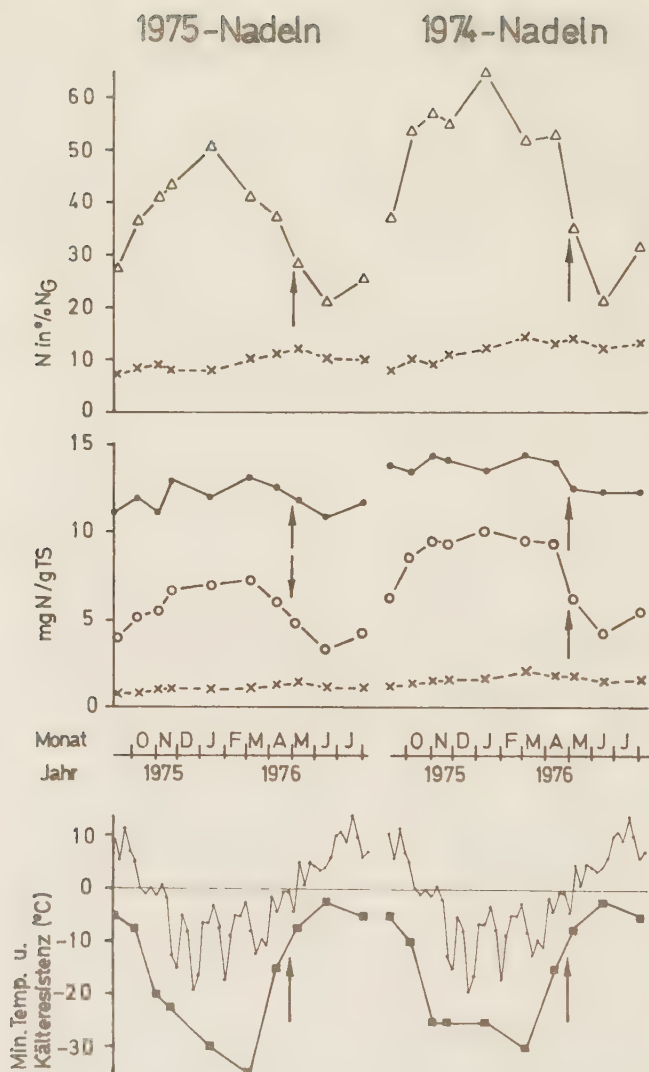


Abb. 7. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln der jungen Bäume der Gruppe II NA vom 11.9.1975 bis 6.8.1976.

●—● : N_G , x---x : N_{AL} , o—o und Δ—Δ : N_{BL} bzw. N_{BLP} der eingefrorenen Nadeln, ■—■ : Kälteresistenz, — : Wöchentliche Minimumtemperatur, ↑ : Zeitpunkt des Austriebs.

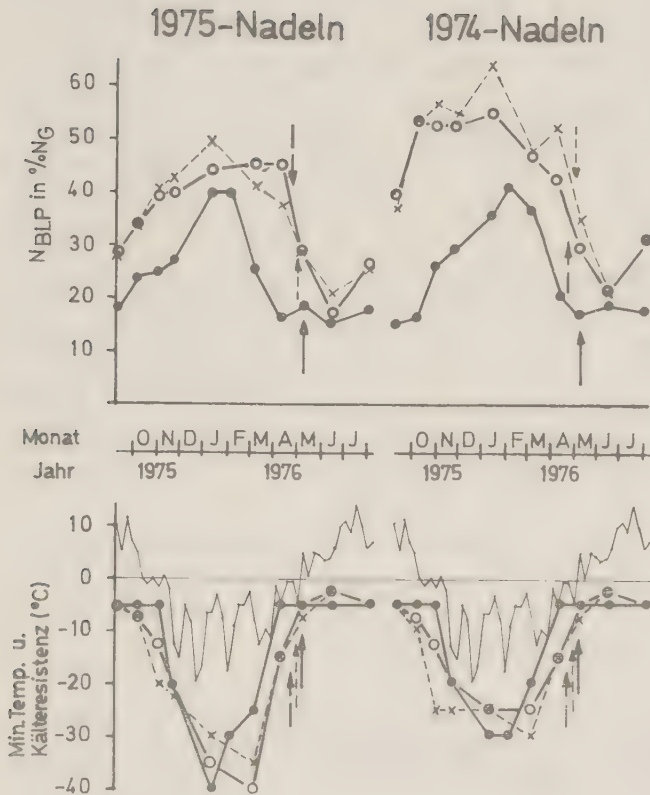


Abb. 8. Prozentualer N_{BLP} -Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln des 60jährigen Baumes (●—●) und der jungen Bäume der Gruppen I NA (○—○) und II NA (x---x) vom 11.9.1975 bis 6.8.1976. N_{BLP} wurde aus eingefrorenem Nadelmaterial extrahiert. — : Wöchentliche Minimumtemperatur ↑, ↑ und ↑ : Zeitpunkt des Austriebs.

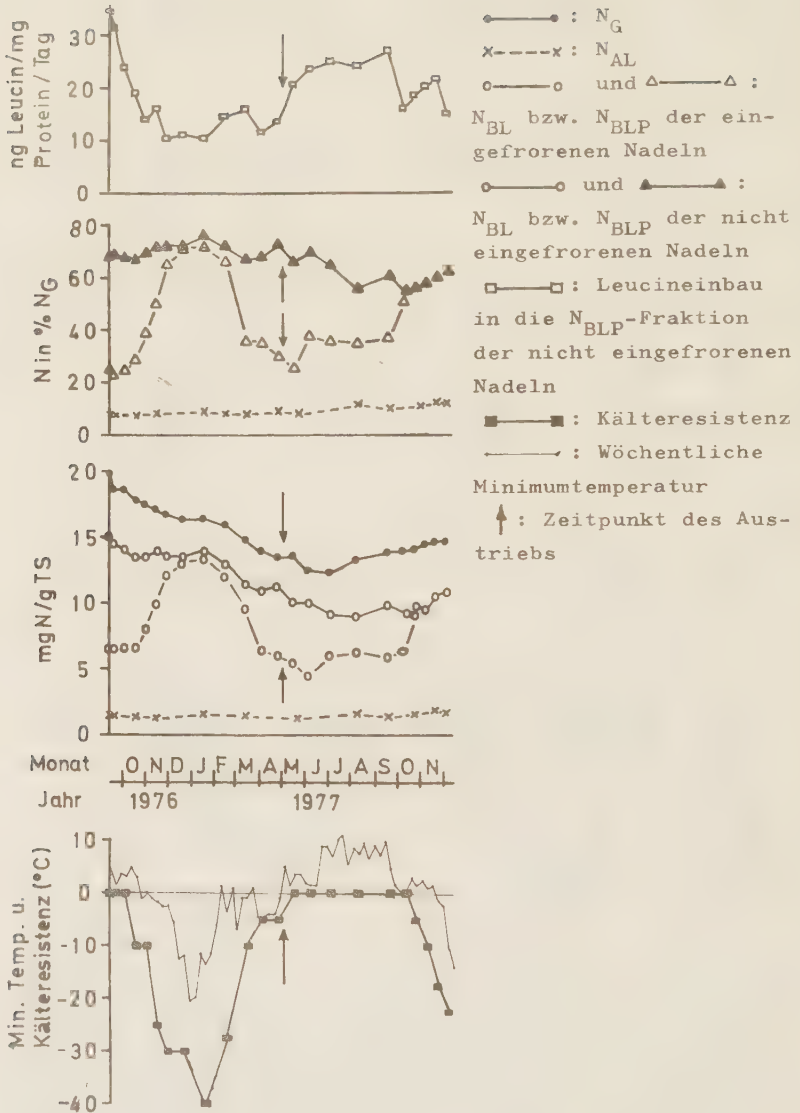


Abb. 9. N-Gehalt, Kälteresistenz und Leucineinbau der 1976 gebildeten Nadeln der jungen Bäume der Gruppe III NA vom 14.9.1976 bis 7.12.1977.

3.2.1.1. Kälteresistenz

Die Kälteresistenz der Nadeln aller Gruppen unter normalen Außenbedingungen zeigte einen deutlichen, zyklischen Jahresgang, der im Einklang mit Befunden anderer Untersuchungen an der Fichte steht (vgl. z.B. PISEK und SCHIESSL 1947). Da die experimentell bestimmte Kälteresistenz stets tiefer als die zur Zeit der Bestimmung herrschenden Außentemperaturen war, lieferte der angewendete Überlebens-Test (s. 2.3.2.2., S. 11) offenbar zuverlässige Meßwerte.

Die Minimalwerte der Kälteresistenz im Sommer betrugen 0°C bis -5°C . Die Maximalwerte im Winter für die einjährigen Nadeln waren einheitlich -35° bis -40° und lagen um 5° bis 15° tiefer als die der zweijährigen Nadeln. Das Ausmaß der erworbenen Kälteresistenz entspricht also dem, das für die Nadeln des gleichen Ortes bei ähnlichen Untersuchungsverhältnissen von PISEK und SCHIESSL (1947) beschrieben wurde, ist aber nicht mit den extrem tiefen Kälteresistenzwerten (bis -196°) vergleichbar, die für nordamerikanische Koniferen berichtet worden sind (PARKER 1959, POMEROY et al. 1970).

Relativ deutliche Unterschiede ergaben sich jedoch zwischen dem alten (60jährigen) und den jungen Bäumen. Die Härtung setzte beim 60jährigen Baum zur Zeit des Auftretens der ersten Fröste ein, begann aber früher bei den jungen Bäumen, was in den Fällen der I NA- und II NA-Nadeln besonders ausgeprägt war (s. Abb. 8 und 9, S. 34 bzw. 35). Trotz des unterschiedlichen Beginns der Härtung wurde schon Ende November für alle Nadeln eine Kälteresistenz von mindestens -20° gemessen und die Härtung war jeweils Mitte Januar im wesentlichen abgeschlossen; nur die II NA-Bäume zeigten eine raschere Entwicklung. Bei

den jungen Bäumen kann somit eine Vorhärtung (s. LARCHER 1973) erkannt werden, wobei sich die kürzer werdenden Tage und relativ niedrige Temperaturen schon vor dem Auftreten der schwereren Fröste bemerkbar machen. Die Verhältnisse beim 60jährigen Baum deuten dagegen auf eine unmittelbarere Wirkung des Kältefaktors, wobei etwaige Vorbereitungseinflüsse wie Kurztag und frostnahe Temperaturen vermutlich die Fähigkeit zur Härtung steigern, die Auslösung aber noch nicht bewirken.

Beim 60jährigen Baum und den III NA-Bäumen setzte die Enthärtung der Nadeln wesentlich früher ein als bei den I NA- und II NA-Bäumen, obwohl auch hier eine Kälteresistenz von weniger als -20° im Frühjahr 1976 erst Anfang April, im milderen Frühjahr von 1977 Ende März gemessen wurde. Die Hauptphase der Enthärtung verlief in allen Fällen ähnlich rasch. Die Enthärtung des 60jährigen Baumes war zur Zeit des Beginns der endgültig frostfreien Zeit vollzogen; bei den jungen Bäumen war sie erst später abgeschlossen, was besonders in den Fällen der I NA- und II NA-Nadeln auffällig war. Diese Befunde bestätigen die engere Orientierung des Härtungszyklus beim 60jährigen Baum als bei den jungen Bäumen an dem Auftreten schwererer Fröste. Die Verhältnisse bei den jungen Bäumen hinsichtlich der Übereinstimmung der Temperatur- und Resistenzgänge entsprechen jedoch eher den relevanten Befunden aus der Literatur (PISEK und SCHIESSL 1947, PARKER 1959 und 1961, POMEROY et al. 1970).

3.2.1.2. Gesamt-N

Der N_G -Gehalt der Nadeln des 60jährigen Baumes (Abb. 5, S. 31; siehe auch Abb. 2, S. 24) nahm mit der Zeit kontinuierlich ab, wobei die 1974-Nadeln eine vorübergehende Erhöhung ihres N_G -Gehaltes während des zweiten Herbstes des Nadelbestehens aufwiesen. Die N_G -Fraktion der III NA-Nadeln (Abb. 9, S. 35) zeigte einen sehr ähn-

lichen Verlauf wie die der 1974-Nadeln des 60jährigen Baumes. Die N_G -Fraktion der I NA- und II NA-Nadeln (Abb. 6 bzw. 7, S. 32 bzw. 33) zeigte nur geringe Änderungen: Geringe Herbstanstiege sind angedeutet, sowie fallende Tendenzen gegen den Sommer hin bei den II NA-Nadeln. Eine allmähliche Abnahme des trockengewichtsbezogenen N_G -Gehaltes kann in Beziehung mit der zunehmenden Verfestigung des Nadelgewebes mit zunehmendem Alter und dem vorübergehenden herbstlichen Anstieg mit dem weit verbreiteten Abbau von Stärke zugunsten löslicher Zucker im Zuge der Härtung (LEVITT 1956), der auch für die Fichte beschrieben wurde (SENDER et al. 1971, 1975) gebracht werden. Es ist somit offenbar, daß die Änderungen der N_G -Fraktion von Fichtennadeln unter normalen Außenbedingungen keine Korrelation mit dem Gang der Kälteresistenz zeigen.

3.2.1.3. Alkohollöslicher N

Eine geringe, allmähliche Zunahme des N_{AL} -Gehaltes der Nadeln aller Gruppen unter normalen Außenbedingungen wurde während der Versuchszeit beobachtet. Es besteht also hier offenbar keine Korrelation zwischen dem Verhalten der N_{AL} -Fraktion und der Kälteresistenz der Nadeln.

3.2.1.4. Boratlöslicher Protein-N

Die N_{BLP} -Fraktion der vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln aller Gruppen in normalen Außenbedingungen zeigte einen deutlichen, zyklischen Jahresgang, der aus einer Zunahme im Herbst/Winter und einer anschließenden Abnahme im Frühjahr mit einem Minimum im Juni bestand und somit eine eindeutige Korrelation mit dem Jahresgang der Kälteresistenz aufwies (Abb. 8 und 9, S.34 bzw. 35).

Das Ausmaß dieser Zunahme bzw. Abnahme der N_{BLP} -Fraktion der eingefrorenen Nadeln war quantitativ nicht streng mit dem der Kälteresistenz korreliert. Der prozentuale Unterschied zwischen den Maximal- und Minimalwerten des N_{BLP} -Gehaltes im Verlauf des Jahres variierte mit dem Baummaterial und dem Nadelalter; der Maximalwert lag 230 bis 310 % über dem Minimalwert. Die Zunahme der N_{BLP} -Fraktion setzte in der Regel früher ein als die Härtung und verlief, abgesehen von den III NA-Bäumen, steiler. Dieses Vorseilen der N_{BLP} -Fraktion war relativ etwas ausgeprägter bei den I NA- und II NA-Bäumen als beim 60jährigen Baum, und trat deutlicher bei den zweijährigen als bei den einjährigen Nadeln hervor. Die Abnahme der N_{BLP} -Fraktion verlief gegenüber der Enthärtung in allen Fällen verzögert, obwohl die Minimalwerte des N_{BLP} und der Kälteresistenz etwa gleichzeitig erreicht wurden.

Die N_{BLP} -Fraktion der Nadeln der III NA-Bäume, die vor der Extraktion nicht eingefroren wurden, zeigte jedoch keinen deutlichen Jahresgang (Abb. 9, S. 35). Einer geringen Zunahme dieser Fraktion bis Mitte des ersten Winters folgte eine allmähliche Abnahme bis zum Ende der Untersuchung. Ein Vergleich des N_{BLP} -Gehaltes der Nadeln der III NA-Bäume, die vor der Extraktion eingefroren bzw. nicht eingefroren wurden, zeigt, daß der der ersteren im Sommer nur ca. 50 %, im Winter dagegen 90-100 % des der letzteren betrug. Der Jahresgang der N_{BLP} -Fraktion der eingefrorenen Nadeln beschreibt somit den Verlauf desjenigen Anteils des boratlöslichen Protein-N, der auch nach Einfrieren der Nadeln bei -20° noch extrahierbar war, nicht aber den der Gesamtmenge, die keine Korrelation mit der Kälteresistenz zeigt. Damit ist offensichtlich, daß es bei enthärteten Nadeln zwei Fraktionen des N_{BLP} gibt, nämlich einen kälte labilen, der nach dem Einfrieren unlöslich ist und einen weiterhin löslichen kältestabilen. Bei gehärteten Nadeln dagegen ist die gesamte N_{BLP} -Fraktion kältestabil. Nachträglich untersuchte Stichproben bestätigten diese Verhältnisse auch bei den anderen NA-Gruppen.

Während des ersten Winters der Untersuchung der III NA-Bäume betrug die N_{BLP} -Fraktion der eingefrorenen Nadeln nur bei gut entwickelter Härting (Kälteresistenz mehr als -25°) mehr als 90 % der N_{BLP} -Fraktion der nicht eingefrorenen Nadeln. Im zweiten Herbst war der N_{BLP} -Gehalt der eingefrorenen Nadeln schon zu jener Zeit so hoch wie der der nicht eingefrorenen Nadeln, zu der die Kälteresistenz erst auf -5° gestiegen war. Die Umwandlung des kältelabilen Anteils der boratlöslichen Proteinfraction in den kältestabilen Anteil war also im zweiten Herbst des Nadelbestehens mit einem viel früheren Stadium der Härting als im ersten verbunden. Dies stünde mit dem rascheren Anstieg der N_{BLP} -Fraktion zum Maximalwert bei den älteren Nadeln der I NA- und II NA-Bäume (Abb. 8, S. 34) in Übereinstimmung.

3.2.1.5. Einbau von Leucin in die boratlösliche Proteinfraction

Die Rate des Einbaus von Leucin in die boratlösliche Proteinfraction der vor der Extraktion nicht eingefrorenen Nadeln der III NA-Bäume (Abb. 9, S. 35) zeigte bei z.T. starken Änderungen einen deutlichen zyklischen Jahresverlauf, der sich umgekehrt zu den Jahresgängen der Kälteresistenz und des N_{BLP} -Gehaltes der vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln verhielt. Die Einbaurate von Leucin nahm im ersten Herbst bei der Zunahme von Kälteresistenz und kältestabilem boratlöslichem Protein sehr stark ab. Sie blieb auf einem niedrigen Niveau bis die letzten Fröste endgültig vorüber waren und nahm nach dem Abschluß der Enthärtung und der Hauptabnahme der kältestabilen N_{BLP} -Fraktion wieder zu. Sie blieb dann auf einem relativ hohen Niveau bis zum Auftreten von frostnahen Temperaturen im zweiten Herbst, wonach eine erneute abnehmende Tendenz erkannt werden kann.

Die Rate des Leucineinbaus zeigte am ehesten eine Parallelität mit dem Temperaturgang der Umgebung, wie sie allgemein für Stoffwechselprozesse zu beobachten ist: Das Auftreten niedriger Temperaturen hemmte, das Herrschen milder Temperaturen förderte die Aktivität. Der Leucineinbau zeigte höchstens eine negative Korrelation mit der Kälteresistenz. Dies steht im Gegensatz zu den Befunden von POMEROY et al. (1970) für Pinus resinosa Borke, die eine starke positive Korrelation zwischen Änderungen der Kälteresistenz und des Leucineinbaus zeigen. Angesichts der vorübergehenden Erhöhung der Einbaurrate im zweiten Herbst, die auch im ersten Herbst angedeutet ist, läßt sich jedoch ein Zusammenhang zwischen Härtung und vermehrter Proteinsynthese auch hier nicht ausklammern; diese eventuell härtingsbedingte Steigerung der Einbaurrate wird jedoch von dem allgemeinen Trend der Syntheseaktivität mehr oder minder stark maskiert.

3.2.1.6. Austrieb

Der Zeitpunkt des Austriebs im Frühjahr variierte mit dem Baummaterial auch unter identischen Außenbedingungen. Er lag im Jahre 1976 eine bzw. zwei Wochen früher bei den II NA- bzw. I NA-Bäumen als beim 60jährigen Baum. Während der 60jährige Baum und die III NA-Bäume erst nach dem Auftreten der letzten Fröste austrieben, mußten die Neutriebe der I NA- und II NA-Bäume noch leichte Fröste (bis -5°C) durchstehen. Die Verhältnisse hinsichtlich der Kälteresistenz und der kältestabilen boratlöslichen Proteinfraction der Nadeln waren auch nicht überall einheitlich zur Zeit des Austreibens. Obwohl die Enthärtung beim Austrieb immer stark fortgeschritten war, war sie nur im Falle des 60jährigen Baumes abgeschlossen. Die frühjährliche Abnahme der N_{BLP} -Fraktion hatte zu dieser Zeit zwar immer angesetzt, hatte sich aber nur beim 60jährigen Baum und den II NA-Bäumen vollzogen.

3.2.2. Abhängigkeit von der Photoperiode: Jahresgang unter konstanter Photoperiode bei natürlichem Temperaturgang

Um den Einfluß von konstanten LT- und KT-Bedingungen unter natürlichen Temperaturverhältnissen zu untersuchen, wurden junge Bäume der Serien II und III von den natürlichen Außenbedingungen in LTA- bzw. KTA-Bedingungen (s. 2.2.2., S. 8) überführt und dort parallel zu den entsprechenden NA-Bäumen (s. 3.2.1.) untersucht. Die Bäume der Serie II wurden drei Monate vor dem Beginn der Untersuchung in die LTA- bzw. KTA-Bedingungen überführt; die Umstellung der Bäume der Serie III dagegen erfolgte erst am ersten Untersuchungstag (keine Vorbehandlung).

Die Jahresgänge der Kälteresistenz und der N-Fractionen der Nadeln der Bäume der Serien II und III unter LTA- bzw. KTA-Bedingungen sowie der Vergleich der Kälteresistenz und des N_{BLP} -Gehaltes dieser Nadeln mit denen der parallel untersuchten seriengleichen NA-Bäume sind in den Abb. 10 bis 14 (S. 43 bis 47) dargestellt.

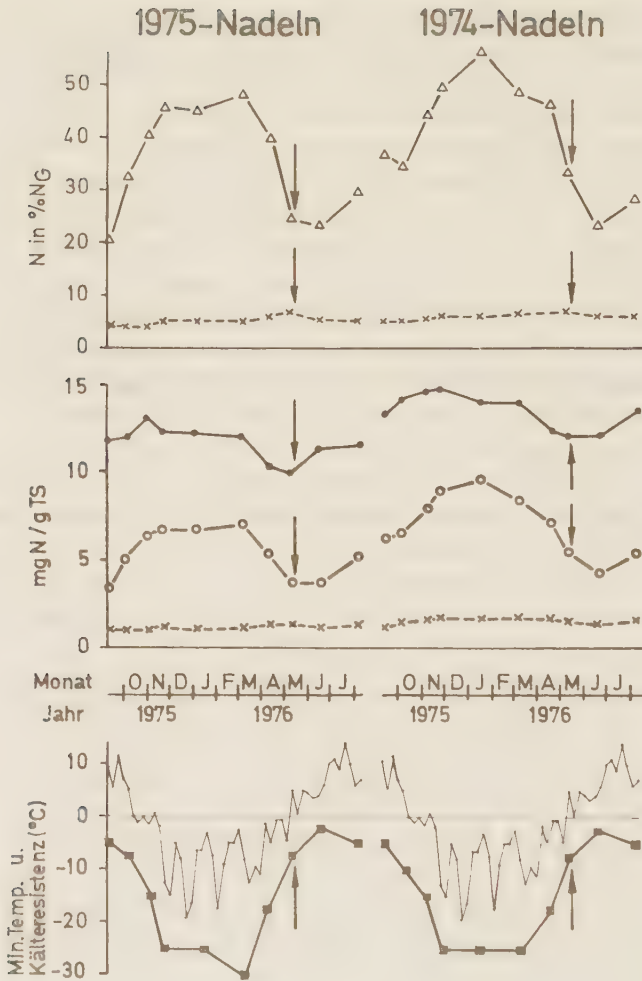


Abb. 10. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln der jungen Bäume der Gruppe II LTA vom 11.9.1975 bis 6.8.1976.

●—● : N_G , x—x : N_{AL} , ○—○ und Δ—Δ : N_{BL} bzw. N_{BLP} der eingefrorenen Nadeln, ■—■ : Kälteresistenz, — : Wöchentliche Minimumtemperatur, ↑ : Zeitpunkt des Austriebs.

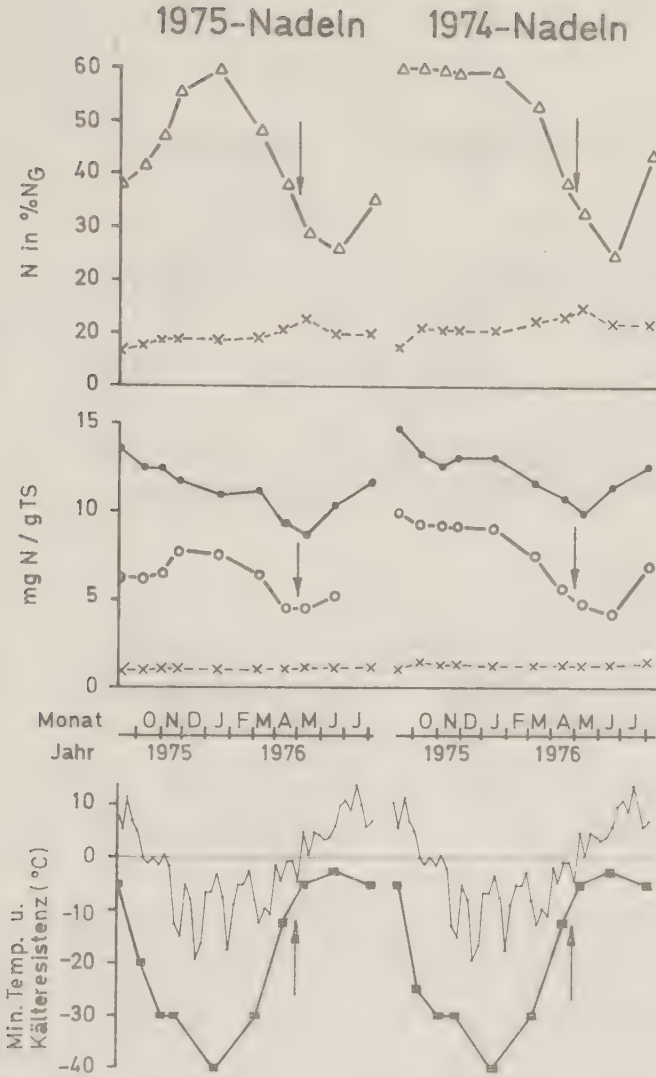


Abb. 11. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln der jungen Bäume der Gruppe II KTA vom 11.9.1975 bis 6.8.1976.

●—● : N_G , x---x : N_{AL} , ○—○ und △—△ : N_{BL} bzw. N_{BLP} der eingefrorenen Nadeln, ■—■ : Kälteresistenz, — : Wöchentliche Minimumtemperatur, ↑ : Zeitpunkt des Austriebs.

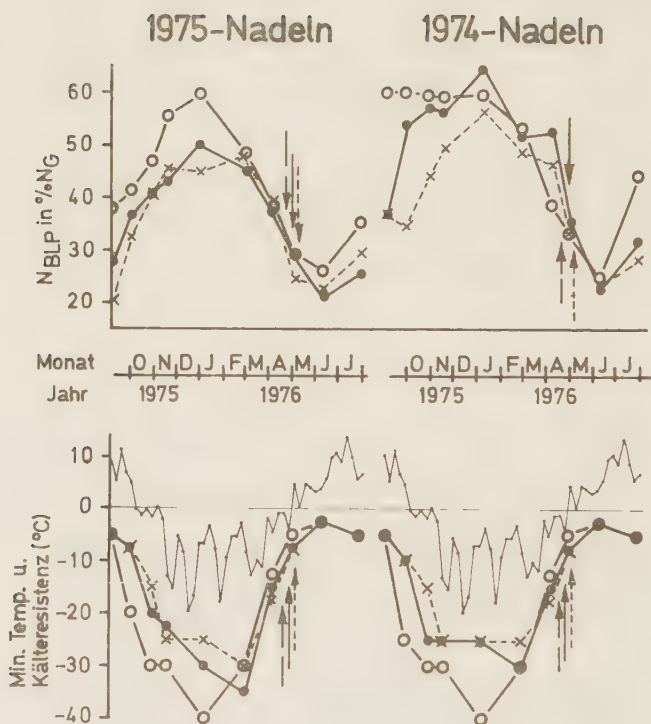


Abb. 12. Prozentualer N_{BLP} -Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln der jungen Bäume der Gruppen II NA (●—●), II LTA (x---x) und II KTA (○—○) vom 11.9.1976 bis 6.8.1976.

N_{BLP} wurde aus eingefrorenem Nadelmaterial extrahiert.

— : Wöchentliche Minimumtemperatur, ↑, ↑, ↑ : Zeitpunkt des Austriebs.

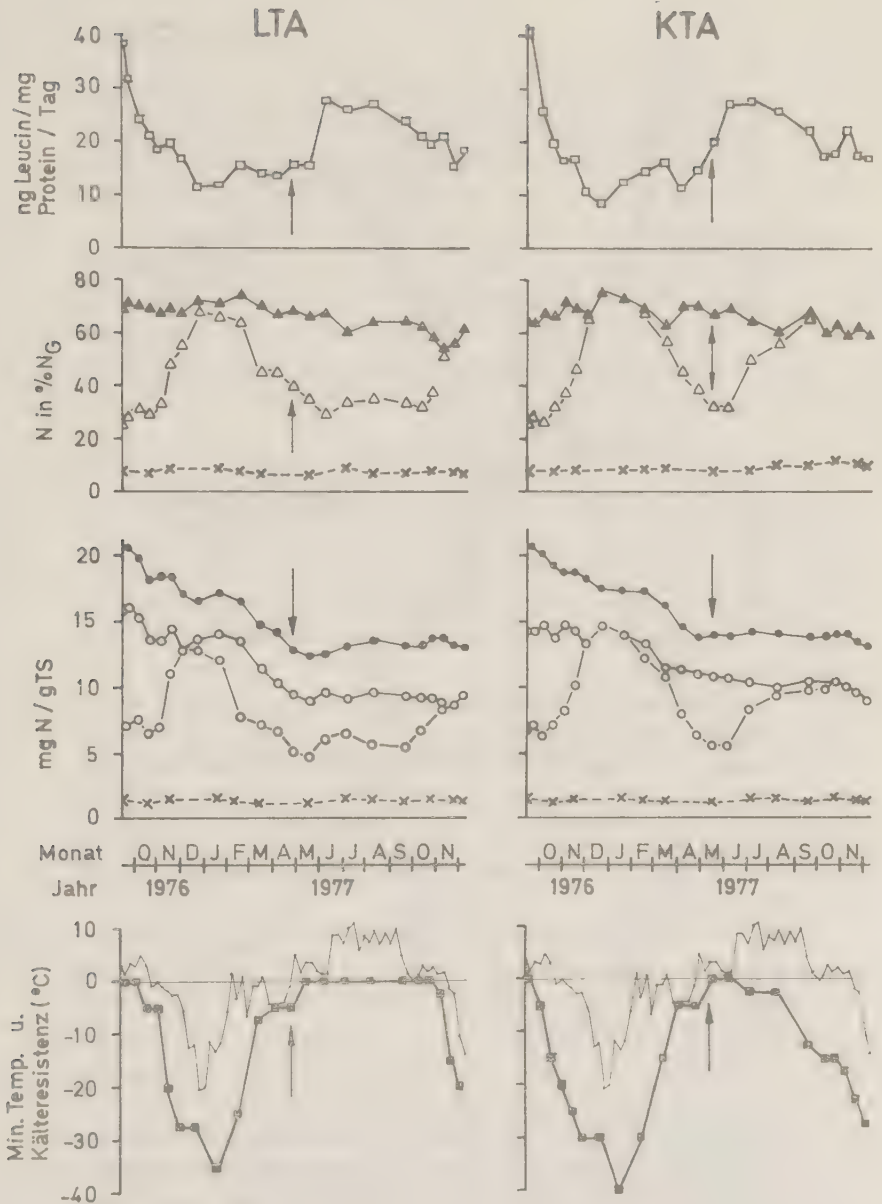


Abb. 13. N-Gehalt und Kälteresistenz und Leucineinbau der 1976 gebildeten Nadeln der jungen Bäume der Gruppen III LTA und III KTA vom 14.9.1976 bis 7.12.1977. Zeichen-erklärung wie bei Abb. 9, S. 35

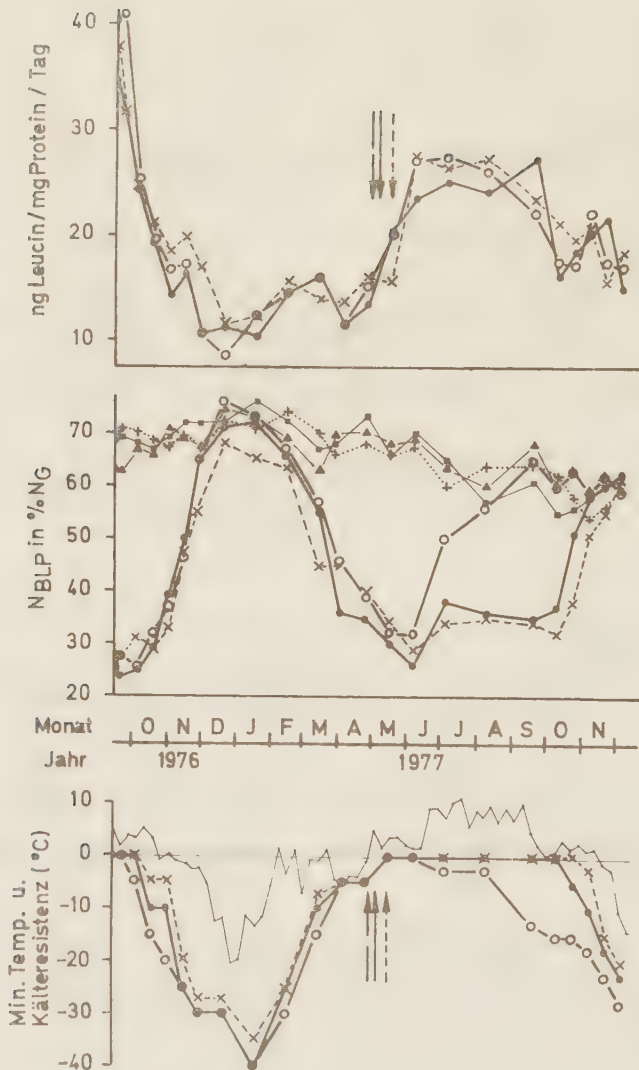


Abb. 14. Prozentualer N_{BLP} -Gehalt, Kälteresistenz und Leucineinbau der 1976 gebildeten Nadeln der jungen Bäume der Gruppen III NA (●—●), III LTA (x---x) und III KTA (○—○) vom 14.9.1976 bis 7.12.1977. N_{BLP} aus eingefrorenen Nadeln: Obige Zeichen; aus frisch geernteten Nadeln: ■—■ : NA, +.....+ : LTA, ▲—▲ : KTA. — : Wöchentliche Minimumtemperatur, ↑↑↑ : Zeitpunkt des Austriebs.

3.2.2.1. Kälteresistenz

Bei den Bäumen der Serie II (Abb. 12, S. 45) setzte die Härtung in LTA- und in KTA-Bedingungen zur gleichen Zeit wie in NA-Bedingungen ein. Eine Kälteresistenz von -20° wurde in LTA-Bedingungen aber erst drei Wochen später als in NA-Bedingungen gemessen, in KTA-Bedingungen dagegen vier Wochen früher. Die Maximalwerte der Kälteresistenz der LTA- und KTA-Nadeln im Winter lagen 5° höher bzw. $5 - 10^{\circ}$ tiefer als die der NA-Nadeln. Die Enthärtung setzte in KTA-Bedingungen etwas früher ein als bei den NA-Bäumen und verlief auch ein wenig rascher.

Bei den Bäumen der Serie III (Abb. 14, S. 47) wurden zunächst nur geringe Unterschiede gegenüber den NA-Verhältnissen bei den neu in diese Bedingungen eingestellten LTA- und KTA-Bäumen beobachtet. Die Härtung der LTA-Bäume in erstem Herbst erfolgte lediglich etwas langsamer als bei den NA-Bäumen; das Kälteresistenzmaximum betrug auch 5° weniger. Die Härtung unter KTA-Bedingungen setzte dagegen früher ein und verlief schneller, wobei eine Resistenz von -20° um zwei Wochen früher als bei den NA-Bäumen gemessen wurde. Die Enthärtung im Frühjahr erfolgte in LTA-Bedingungen identisch wie in NA-Bedingungen; bei den KTA-Bäumen verlief sie geringfügig langsamer (Gegensatz zu den Verhältnissen bei den Serie II-Bäumen: Abb. 12).

Nach einjähriger Einwirkung der konstanten LT- und KT-Photoperioden wurden zum Teil viel markantere Unterschiede im Kälteresistenzverhalten der LTA- und KTA-Nadeln der Serie III-Bäume gegenüber den Verhältnissen bei den NA-Bäumen beobachtet. Die Härtung unter LTA-Bedingungen setzte zwei Wochen später ein; sie entwickelte sich dann jedoch schneller und bewirkte einen Resistenzgrad von -20° zum gleichen Zeitpunkt wie bei den NA-Bäumen. Die verzögerte Wirkung der konstanten LT-Bedingungen war somit nicht stärker als im Falle der Serie II-Bäume. Die Härtung unter KTA-Bedingungen setzte wesentlich früher ein als bei den NA-Bäumen (11 Wochen früher absolut, 5 Wochen früher im

verstärkten Ausmaß), schon zu einer Zeit, zu der die Lufttemperatur sich noch nicht dem Gefrierpunkt genähert hatte. Eine Resistenz von -20° wurde allerdings erst 2,5 Wochen früher als bei den NA-Bäumen gemessen. Die lang einwirkenden KT-Bedingungen beschleunigten die Härtung der Nadeln noch mehr als im Falle der Serie II-Bäume.

Diese Ergebnisse zeigen, daß niedrigere Freilandtemperaturen im Herbst zur Härtung von Fichtennadeln führen ungeachtet der photoperiodischen Verhältnisse. In diesem Rahmen übt Kurztag einen positiven Einfluß auf die Induktion und das Ausmaß der Härtung aus, während Langtag verzögernd und abschwächend wirkt. Besonders die sich stärker äußern-
de KT-Wirkung scheint von der Einwirkungszeit der Photo-
periode bzw. dem Nadelalter abhängig zu sein. Die Enthärtung im Frühjahr scheint weitgehend durch die steigenden Temperaturen bedingt zu sein, da die unterschiedlichen Photoperioden hier kaum Einfluß hatten.

3.2.2.2. Gesamt-N

Bei den Bäumen der Serie II war der Jahresgang der N_G -Fraktion der LTA-Nadeln (Abb. 10, S. 43) dem der NA-Nadeln (Abb. 7, S. 33) sehr ähnlich, während der der KTA-Nadeln (Abb. 11, S. 44) einen deutlichen Unterschied zeigte, da die höheren Herbstwerte kontinuierlich bis zum Mai abfielen. Bei den Bäumen der Serie III zeigte der Jahresgang der N_G -Fraktion der Nadeln im ersten Jahr keine qualitativen Unterschiede unter LTA- bzw. KTA-Bedingungen (Abb. 13, S. 46) gegenüber den Verhältnissen unter NA-Bedingungen (Abb. 9, S. 35). Im zweiten Herbst der Untersuchung blieb die N_G -Fraktion der LTA- und KTA-Nadeln der Serie III-Bäume, im Gegensatz zum allmählichen Anstieg bei den NA-Nadeln, konstant. Keine der im Zusammenhang mit dem Herrschen der konstanten LT- bzw. KT-Photoperioden auftretenden N_G -Änderungen zeigte jedoch eine Korrelation mit entsprechenden Änderungen der Kälteresistenz.

3.2.2.3. Alkohollöslicher N

In den Jahresgängen der N_{AL} -Fraktion der Nadeln unter LTA- und KTA-Bedingungen wurden keine Unterschiede gegenüber den Verhältnissen bei den NA-Nadeln festgestellt.

3.2.2.4. Boratlöslicher Protein-N

Die N_{BLP} -Fraktion der Nadeln der Bäume in LTA- und KTA-Bedingungen verhielt sich allgemein ähnlich wie unter NA-Bedingungen. Der Jahresgang des N_{BLP} , der aus vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln extrahiert werden konnte (kältestabiler N_{BLP} : vgl. 3.2.1., S. 39), war bei starken Änderungen jeweils eindeutig mit dem der Kälteresistenz korreliert. Die Änderungen im Jahresgang der Kälteresistenz gegenüber den Verhältnissen unter NA-Bedingungen, die bei LTA- und KTA-Bedingungen beobachtet werden konnten (s. 3.2.2.1., S. 48), wurden größtenteils auch im Verhalten des kältestabilen N_{BLP} widergespiegelt. Wie bei der Kälteresistenz war der KT-Einfluß stärker als der LT-Einfluß, und das bei NA-Bedingungen festgestellte Fehlen einer strengen quantitativen Korrelation zwischen dem Ausmaß der Kälteresistenz und den Änderungen der kältestabilen N_{BLP} -Fraktion konnte weiterhin bestätigt werden. Der Jahresgang des N_{BLP} , der aus den vor der Extraktion nicht eingefrorenen Nadeln der Bäume der Serie III gewonnen wurde (Gesamt- N_{BLP} : s. 3.2.1., S. 39), zeigte bei LTA- und KTA-Bedingungen ebenfalls wie bei NA-Bedingungen kaum Änderungen und wird offenbar von konstanten LT- bzw. KT-Bedingungen nicht beeinflusst.

Bei den Bäumen der Serie II (Abb. 12, S. 45) wurde gegenüber den Verhältnissen bei den NA-Bäumen eine Verzögerung der Zunahme der kältestabilen N_{BLP} -Fraktion der LTA-Bäume im Herbst beobachtet, die bei den älteren Nadeln viel stärker ausgeprägt war. Die Abnahme dieser Fraktion im Frühjahr verlief dagegen unverändert. Die Verzögerung der Härtung durch konstante LT-Bedingungen bei unveränderter Enthärtung wurde also in einem entsprechenden Verhalten der kältestabilen N_{BLP} -Fraktion widergespiegelt.

Die Zunahme der kältestabilen N_{BLP} -Fraktion der zweijährigen Nadeln der Serie II-KTA-Bäume wurde gegenüber der der NA-Bäume dieser Serie beschleunigt; bei den jüngeren Nadeln war die N_{BLP} -Kurve bis Mitte des Winters absolut, aber nicht relativ, höher. Die Abnahme der N_{BLP} -Fraktion der zweijährigen Nadeln setzte auch im Frühjahr eher ein. Die Beschleunigung der Härtung und - in geringerem Maße - auch der Enthärtung durch konstante KT-Bedingungen wurde also in einem entsprechenden Verhalten der kältestabilen N_{BLP} -Fraktion der zweijährigen Nadeln widerspiegelt, war aber in den Verhältnissen bei den jüngeren Nadeln nicht eindeutig zu erkennen.

Bei den Bäumen der Serie III (Abb. 14, S. 47) konnten bis zum Frühsommer 1977 nur geringe Abweichungen im Verlauf der kältestabilen N_{BLP} -Fraktion der LTA- und KTA-Bäume vom Gang dieser Fraktion bei den NA-Bäumen beobachtet werden, wobei die im Zusammenhang mit den konstanten LT- und KT-Bedingungen auftretenden kleinen Unterschiede in der Kälteresistenz allerdings nicht im N_{BLP} -Verlauf widerspiegelt wurden. Allgemein kam jedoch die geringe Beeinflussbarkeit der Kälteresistenz durch die kurzfristige Einwirkung des konstanten Lang- bzw. Kurztages bei natürlichem Temperaturgang auch durch das Verhalten des kältestabilen N_{BLP} gut zum Ausdruck. Die relativ geringen Unterschiede im Kälteresistenzverhalten der LTA- und NA-Bäume im Sommer und Herbst 1977 sind ebenfalls im Verlauf der kältestabilen N_{BLP} der Nadeln während dieser Zeit wiedergegeben.

Bei den Nadeln der III KTA-Bäume setzte eine beträchtliche Zunahme der kältestabilen N_{BLP} -Fraktion schon ab Juni 1977 ein, welche erst viel später (im späten Oktober) bei den NA-Nadeln zu beobachten war. Hier stand also der Beschleunigung der Härtung durch die jetzt langanhaltenden konstanten KT-Bedingungen eine noch stärker ausgeprägte Vorauseilung der N_{BLP} -Zunahme gegenüber. Wie bei den LTA-Bäumen der gleichen Serie betrug der kältestabile N_{BLP} -

Gehalt der III KTA-Nadeln schon 100 % des gesamten N_{BLP} , als die Härtung nur noch sehr geringfügig war (vgl. 3.2.1.4., S. 40).

3.2.2.5. Einbau von Leucin in die boratlösliche Proteinfraktion

Der Jahresgang des Leucineinbaus in die boratlösliche Proteinfraktion der vor der Extraktion nicht eingefrorenen Nadeln der Bäume der Serie III war sowohl unter LTA- als auch unter KTA-Bedingungen sehr ähnlich zu den Verhältnissen unter NA-Bedingungen (Abb. 14, S. 47). Die Unterschiede im Verlauf der Kälteresistenz - und kältestabiler N_{BLP} - Kurven ab Juni 1977 zwischen den LTA- und KTA-Nadeln sind nicht in den Raten des Leucineinbaus widergespiegelt. Somit kann erneut (vgl. 3.2.1.5., S. 40) keine allgemeine positive Korrelation zwischen Leucineinbau und Kälteresistenz bzw. kältestabilem N_{BLP} erkannt werden. Die bei den NA-Nadeln angedeutete Steigerung der Proteinsynthese zur Hauptzeit der Härtung (s. 3.2.1.5., S. 40) war auch bei den LTA- und KTA-Nadeln zu beobachten, obwohl in noch schwächer ausgeprägter Form.

3.2.2.6. Austrieb

Der Austrieb der Bäume erfolgte unter KTA-Bedingungen einige Tage (bis eine Woche) früher und unter KTA-Bedingungen um eineinhalb bis fast zwei Wochen später als unter NA-Bedingungen (Abb. 12 und 14, S. 45 bzw. 47). Der veränderte Zeitpunkt des Austriebs bei den konstanten LT- bzw. KT-Bedingungen konnte in keinem Fall mit signifikanten Unterschieden der Kälteresistenz, der kältestabilen N_{BLP} -Fraktion oder der Leucin-Einbaurate der Nadeln in Beziehung gebracht werden.

3.2.3.

Abhängigkeit von der Photoperiode: Jahresgang bei konstanter Photoperiode und konstanter Temperatur von 20°C

Um den Einfluß von konstanten LT- und KT-Bedingungen in der Abwesenheit jeglicher Kältereize zu untersuchen, wurden junge Bäume der Serie II im Juni 1975 in die LTI- bzw. KTI-Bedingungen (s. 2.2.3., S. 8) überführt und dort belassen. 3 Monate später (September 1975) wurde mit ihrer Untersuchung begonnen, die ein Jahr lang parallel zu der der NA-, LTA- und KTA-Bäume der gleichen Serie (s. 3.2.1. und 3.2.2.) verlief. Die Notwendigkeit eines zweiten, zusätzlichen Untersuchungsjahres ergab sich aus den ständig steigenden N-Fractionen (s. Abb. 15 und 16, S. 54 und 55), die keinen Abschluß und keine Stabilisierung zeigten.

Die Änderungen der Kälteresistenz und der N-Fractionen der Nadeln der II LTI- und II KTI-Bäume von September 1975 bis August 1977 sind in Abb. 15 bzw. 16, S. 54 bzw. 55) dargestellt. Die Kälteresistenz und der prozentuale N_{BLP} -Gehalt der Nadeln dieser beiden Baumgruppen sind in Abb. 17 (S. 56) vergleichend dargestellt.

3.2.3.1.

Kälteresistenz

Ein Jahresgang der Kälteresistenz der Nadeln der II LTI- und II KTI-Bäume, wie er für die Nadeln der NA-, LTA- und KTA-Bäume der gleichen Serie beschrieben wurde (s. Abb. 12, S. 45), konnte nicht beobachtet werden.

Da die Testbäume in die warmen LTI- bzw. KTI-Bedingungen zur Zeit der Schlußphase der Enthärtung im Frühjahr (im Juni 1975; vgl. Abb. 8, S. 34) überführt wurden, war die Kälteresistenz der Nadeln sicher zur Zeit dieser Umstellung auf etwa -5° (Sommerwert der NA-, LTA- und KTA-Bäume der gleichen Serie) gefallen.

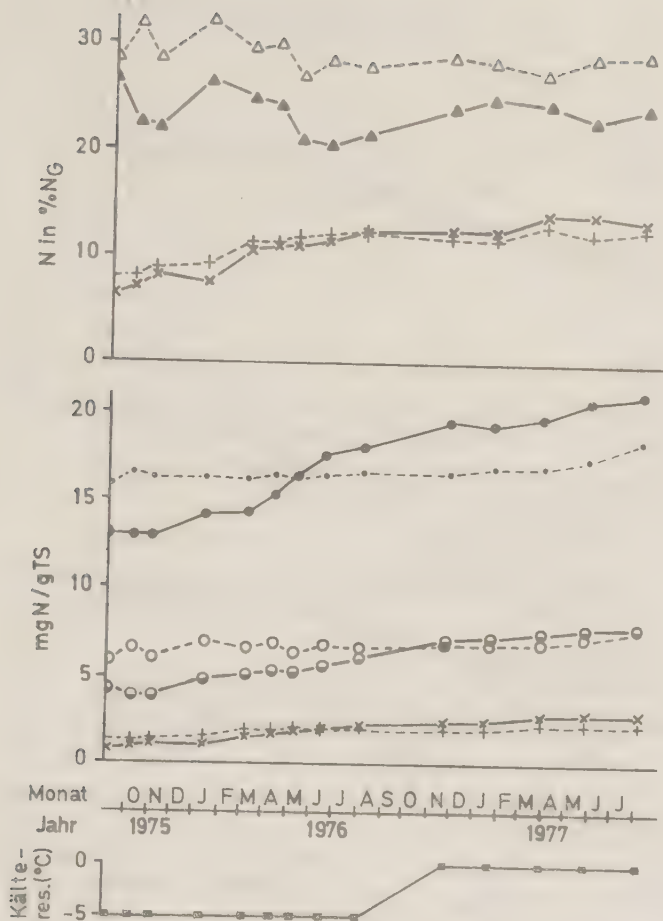


Abb. 15. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln der jungen Bäume der Gruppe II LTI vom 11.9.1975 bis 2.8.1977. Bezeichnung der N-Fractionen der 1975 gebildeten Nadeln (die der 1974 gebildeten Nadeln in Klammern): N_G : $\bullet$ — $\bullet$ ($\bullet$ — $\bullet$), N_{AL} : x—x (+—+), N_{BL} der vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln: $\bullet$ — $\bullet$ ($\bullet$ — $\bullet$), N_{BLP} der vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln: $\triangle$ — $\triangle$ ($\triangle$ — $\triangle$). Kälteresistenz (gleich für beide Nadelgenerationen): $\blacksquare$ — $\blacksquare$

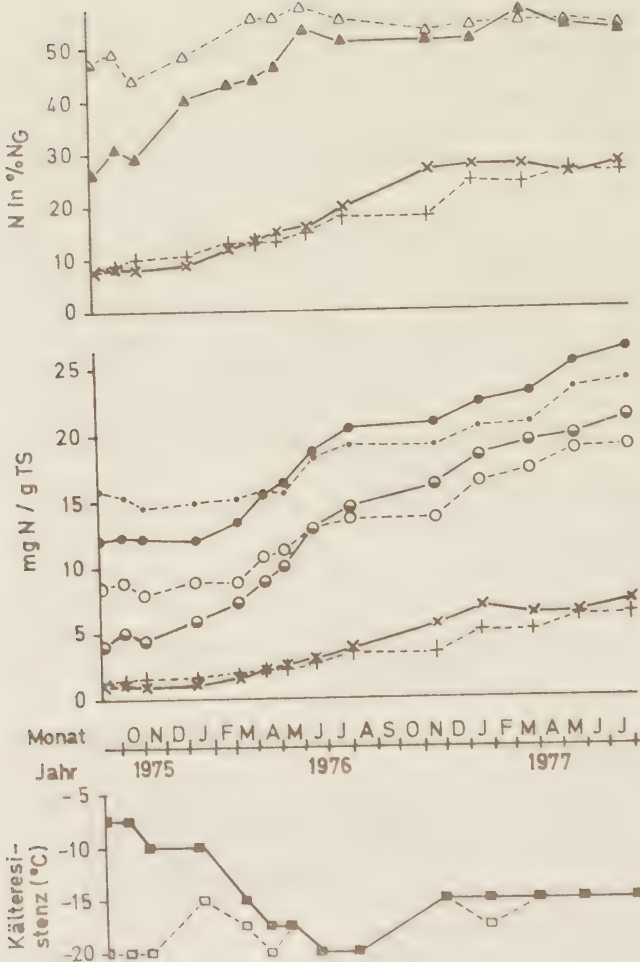


Abb. 10. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln der jungen Bäume der Gruppe II KTI vom 11.9.1975 bis 2.8.1977. Bezeichnung der N-Fractionen und der Kälteresistenz der 1975 gebildeten Nadeln (die der 1974 gebildeten Nadeln in Klammern: N_G : ●—● (○—○), N_{AL} : x—x (+—+), N_{BL} der vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln: ○—○ (○—○), N_{BLP} der vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln: ▲—▲ (△—△), Kälteresistenz: ■—■ (□—□).

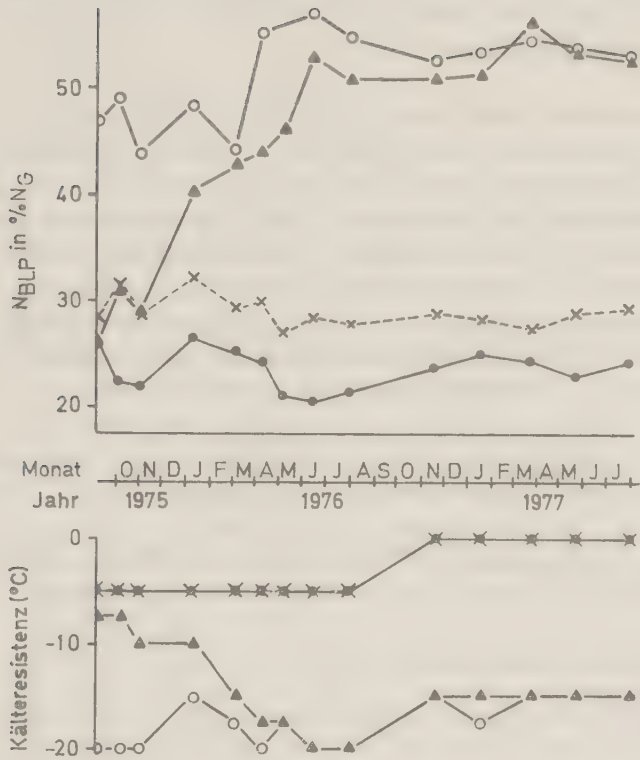


Abb. 17. Prozentualer N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln der jungen Bäume der Gruppen II LTI und II KTI vom 11.9.1975 bis 2.8.1977. N_{BLP} wurde aus vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln extrahiert. ●—● : LTI, 1975 gebildete Nadeln, x---x : LTI, 1974 gebildete Nadeln, ▲—▲ : KTI, 1975 gebildete Nadeln, ○—○ : KTI, 1974 gebildete Nadeln.

Die Kälteresistenz der II LTI-Nadeln blieb auf -5° während des ganzen ersten Untersuchungsjahres, und betrug danach sogar nur 0° . Konstante LT-Bedingungen bei konstanter, milder Temperatur wirkten also negativ auf die Kälteresistenz und bewirkten das Beibehalten des enthärteten Zustandes.

Die Kälteresistenz der II KTI-Nadeln stieg dagegen auf -20° und stabilisierte sich bei -15° nach längerer Zeit. Diese KT-bedingte Härtung erfolgte viel schneller bei den zweijährigen Nadeln (-20° schon zu Beginn der Versuchszeit - 3 Monate nach der Umstellung - erreicht) als bei den einjährigen (Härtung erst nach 14 Monaten abgeschlossen). Konstante KT-Bedingungen bewirkten also auch ohne jeglichen Kältereiz eine mäßige, aber eindeutige und beständige Härtung bei der Fichte.

Daß KT-Bedingungen einen gewissen Grad an Kälteresistenz auch bei milder Temperatur induzieren können, ist auch für die Rinde von Cornus stolonifera (FUCHIGAMI et al. 1971), Pyrus malus (HOWELL und WEISER 1970) und Acer negundo (IRVING und LANPHEAR 1968) gezeigt worden.

3.2.3.2. Gesamt-N und alkohollöslicher N

Dauerbedingungen von konstanter LT- bzw. KT-Photoperiode förderten bei konstanter, milder Temperatur eine ständige Zunahme der N_G - und N_{AL} -Fraktionen (lediglich im Falle der N_G -Fraktion der 1974-Nadeln der LTI-Bäume erst gegen Ende der Untersuchungszeit festgestellt), die nicht mit dem Kälteresistenzzustand der Nadeln korreliert war.

Die Zunahme, die für den N_G -Gehalt bis über 100 % und für den prozentualen N_{AL} -Gehalt bis über 200 % betrugen, waren stärker unter den KTI- als unter den LTI-Bedingungen ausgeprägt. Die Zunahmen waren größer bei den jüngeren (1975-) als bei den älteren (1974-Nadeln). Die N_{AL} -Frak-

tion nahm während der gesamten Untersuchungszeit zu. Die Zunahme des N_G -Gehaltes setzte nach anfänglicher Stabilität der Werte etwas nach dem Beginn der Untersuchung ein, wobei dies früher bei den jüngeren als bei den älteren Nadeln erfolgte.

3.2.3.3. Boratlöslicher Protein-N

Wie die N_G und N_{AL} -Fraktionen (s. 3.2.3.2., S. 57) nahm die absolute N_{BL} -Fraktion der vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln der II LTI- (Abb. 15, S. 57) und II KTI-Bäume (Abb. 16, S. 58) während der Versuchszeit ständig zu, welches Verhalten keine Korrelation mit dem der Kälteresistenz aufwies. Solche, bei den anderen Versuchen nicht beobachteten Zunahmen deuten auf Störungen im N-Haushalt bei konstanter Photoperiode und fehlender Temperaturperiodizität hin. Trotzdem zeigten sich übersichtliche Verhältnisse beim prozentualen N_{BLP} -Gehalt hinsichtlich seiner Beziehung zur Kälteresistenz (Abb. 17, S. 59).

Der prozentuale N_{BLP} -Gehalt der vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln der II LTI-Bäume zeigte keine signifikanten Änderungen während der ganzen Untersuchungszeit. Die Werte für die 1975-Nadeln (20-26 % N_G) und 1974-Nadeln (27-32 % N_G) waren ähnlich zu denen der Nadeln der NA-, LTA- und KTA-Bäume der gleichen Serie, die dem Zustand vollkommener Enthärtung entsprechen (s. Abb. 12, S. 45). Parallel zu ihrer negativen Wirkung auf die Kälteresistenz hielten also die konstanten LTI-Bedingungen bei fehlendem Kältereiz die Löslichkeit der boratlöslichen Proteine vor der Extraktion eingefrorener Nadeln auf einem Minimum.

Der prozentuale N_{BLP} -Gehalt der vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln der II KTI-Bäume zeigte eine deutliche Korrelation mit der Kälteresistenz. Der Anstieg der Kälteresistenz der 1975-Nadeln wurde durch eine zeitlich parallel stattfindende Zunahme der N_{BLP} -Fraktion begleitet; diese

Fraktion blieb mehr oder minder konstant, nachdem die Härtung vollzogen war. Der N_{BLP} -Gehalt der schon zum Versuchsbeginn gehärteten 1974-Nadeln war auch Anfang September 1975 hoch, und nahm im weiteren Verlauf der Untersuchung nur noch relativ wenig zu. Die N_{BLP} -Werte der gehärteten Nadeln (51-65 % N_G ab Sommer 1976) sind gut mit den entsprechenden Maximumwerten der Nadeln der NA-, LTA- und KTA-Bäume der selben Serie (s. Abb. 12, S. 45) zu vergleichen, die aber meist viel höheren Kälteresistenzwerten entsprachen. Die Dauerbedingungen von KT-Photoperiode bei konstanter, milder Temperatur hatten also einen anhaltend positiven Einfluß auf die Löslichkeit des boratlöslichen Proteins der eingefrorenen Nadeln, die zeitlich mit ihrem entsprechenden Einfluß auf die Kälteresistenz korreliert zu sein schien, wobei das Fehlen des Kältereizes das Ausmaß der Kälteresistenz, aber nicht der N_{BLP} -Fraktion, beeinträchtigte.

3.2.3.4. Austrieb

Die Bäume unter den KTI-Bedingungen trieben während der gesamten Untersuchungszeit nicht mehr aus. Die Bäume unter LTI-Bedingungen trieben unregelmäßig und zu anscheinend zufälligen Zeiten aus, wobei weder der Austrieb der einzelnen Bäume der Gruppe noch der der verschiedenen Äste der einzelnen Bäume synchronisiert war; manche der Äste trieben dreimal während der Untersuchungszeit aus, andere gar nicht.

3.2.4. Abhängigkeit von der Photoperiode bei Kältung und Verwöhnung

Um den Einfluß von Veränderungen der Photoperiode- und Temperaturverhältnisse auf Bäume in verschiedenen Stadien der Härtung zu untersuchen, wurden einzelne Bäume der Serien I, II und III unter NA-, LTA- und KTA-Bedingungen entweder in Klimakammern (siehe 2.2.4., S. 9) gekältet oder in den Klimaräumen (siehe 2.2.2., S. 8) verwöhnt.

3.2.4.1. Kältung der Bäume der Serien I und II

Um die Reaktion von kurz vor der herbstlichen Härtung stehenden Bäumen auf eine künstliche Kältung zu untersuchen, wurden einzelne Bäume der Gruppen I und II NA, LTA und KTA am 11.9.1975, zur Zeit noch fehlender oder nur schwach entwickelter Kälteresistenz (vgl. Abb. 8 und 12, S. 34 bzw. 45) in Klimakammern (siehe 2.4.4., S. 9) überführt, wobei je ein Baum jeder der 6 Gruppen bei Starklicht (St) den LT- und KT-Bedingungen ausgesetzt wurde. Von den NA-Gruppen wurde zusätzlich auch je ein Baum in LT- und KT-Bedingungen bei Schwachlicht (Sch) überführt. Die Adaption der LTA- und KTA-Bäume an die LT- bzw. KT-Bedingungen im Freiland betrug zur Zeit des Versuchsbeginns über 3 Jahre (Bäume der Serie I) bzw. 3 Monate (Serie II). Es ergaben sich also folgende Übergänge:

I NA → LT (Sch)	I NA → KT (Sch)
I NA → LT (St)	I NA → KT (St)
II NA → LT (Sch)	II NA → KT (Sch)
II NA → LT (St)	II NA → KT (St)
I LTA → LT (St)	I LTA → KT (St)
II LTA → LT (St)	II LTA → KT (St)
I KTA → LT (St)	I KTA → KT (St)
II KTA → LT (St)	II KTA → KT (St)

Die Lichtperiode unter LT-Bedingungen betrug 16 Std., die unter KT-Bedingungen 9 Std. Während der ersten 8 Tage der Kältung war die Temperatur während der Lichtperiode 15°C und während der Dunkelperiode 5°C (Vorkältung); bei der folgenden verschärften Kältung betrugen diese Temperaturen 10°C bzw. 0°C .

Die Kälteresistenz und die N-Fractionen wurden über einen Zeitraum von 59 Tagen parallel untersucht. Die Ergebnisse hinsichtlich der einzelnen Bäume sind in den Abb. 24 bis 29 (siehe 7., S. 111 bis 116) aufgeführt. Die Werte der Kälteresistenz und der prozentualen N_{BLP} -Fraktion sind zusammenfassend in Abb. 18 und 19 (S. 62 bzw. 63) dargestellt.

3.2.4.1.1. Kälteresistenz

In der ersten Woche der Kältung, bei schwacher Temperaturerniedrigung auf nur 5° , erfolgte in keinem Fall eine signifikante Änderung der Kälteresistenz. Ein deutliches Einsetzen der Kälteresistenz konnte nach etwa drei Wochen nach Erniedrigung der Nachttemperatur auf 0° beobachtet werden. Die Kälteresistenz entwickelte sich etwas rascher und erreichte ein höheres Ausmaß unter KT- als unter LT-Bedingungen.

Der Einfluß verschiedener Lichtintensität war nur unter LT-Bedingungen ausgeprägt. Die Bäume beider Serien unter NA $\rightarrow$ LT-Bedingungen zeigten eine starke Ausprägung der Kälteresistenz im Schwachlicht, die ähnlich stark wie bei den NA $\rightarrow$ KT-Bedingungen war. Die Bäume unter NA $\rightarrow$ LT-Bedingungen zeigten aber demgegenüber eine starke Verzögerung und Verminderung der Abhärtung im Starklicht, während unter NA $\rightarrow$ KT-Bedingungen die Ausbildung der Kälteresistenz im Starklicht praktisch ebenso erfolgte wie im Schwachlicht. Offenbar hängt hier die LT-Wirkung stark von der Lichtintensität ab. Schwachlicht im Langtag wirkte offenbar weitgehend wie Kurztag.

KÄLTUNGSPROGRAMM (SERIE I)

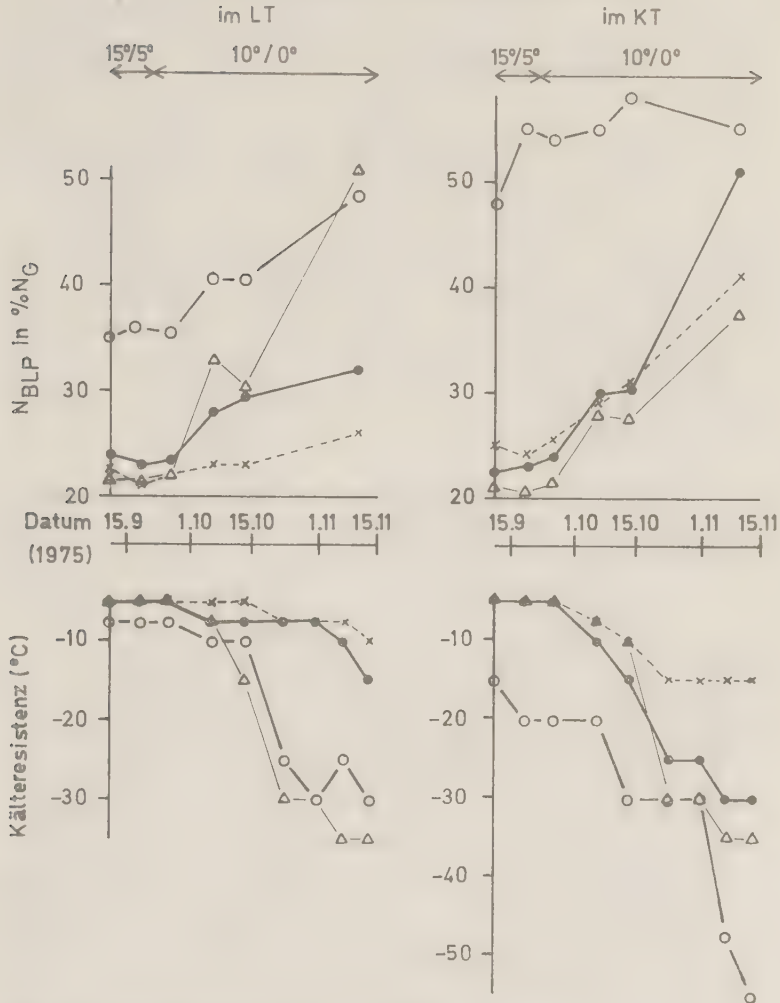


Abb. 18. Prozentualer N_{BLP} -Gehalt und Kälteresistenz der 1975 gebildeten Nadeln von Freilandbäumen der Serie I, die am 11.9.1975 in LT- bzw. KT-Bedingungen überführt und dort gekältet wurden. 15°/5°C bzw. 10°/0°C: Tag-/Nachttemperaturen. Übergänge: ●—● : NA → LT bzw. KT (St), Δ—Δ : NA → LT bzw. KT (Sch), x---x : LTA → LT bzw. KT (St), ○—○ : KTA → LT bzw. KT (St).

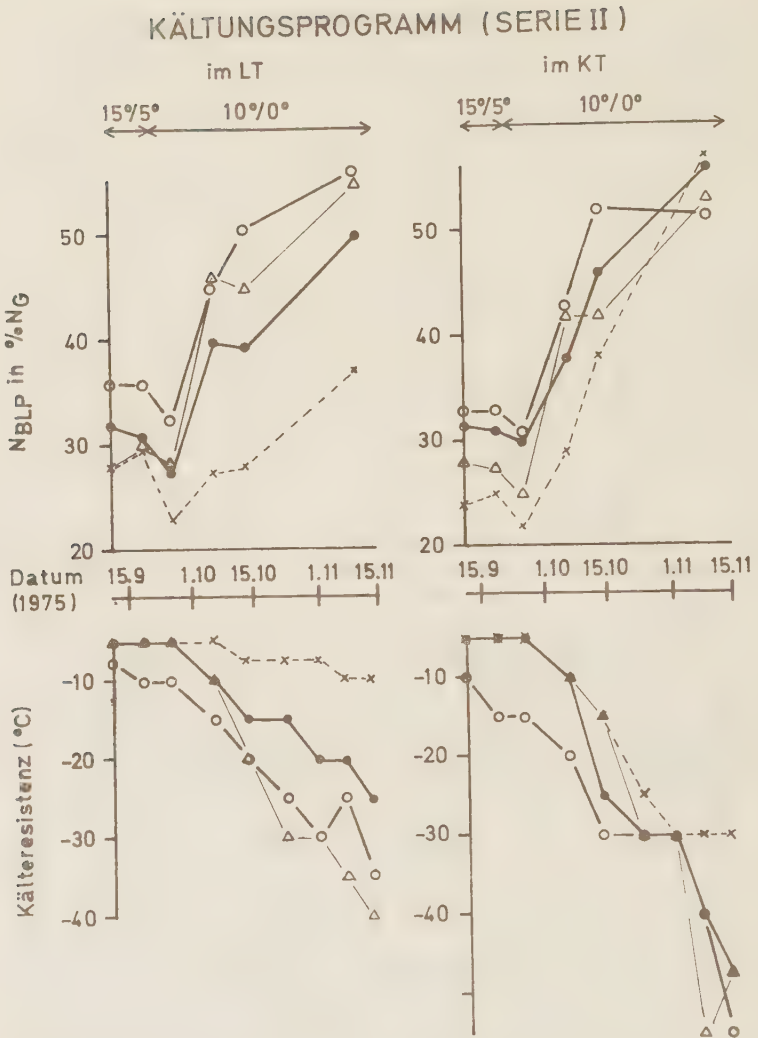


Abb. 19. Prozentualer N_{BLP} -Gehalt und Kälterestenz der 1975 gebildeten Nadeln von Freilandbäumen der Serie II, die am 11.9.1975 in LT- bzw. KT-Bedingungen überführt und dort gekältet wurden. 15°/5°C bzw. 10°/0°C: Tag-/Nachttemperaturen. Übergänge: ●—● : NA → LT bzw. KT (St), Δ—Δ : NA → LT bzw. KT (Sch), x---x : LTA → LT bzw. KT (St), ○—○ : KTA → LT bzw. KT (St).

Besonders deutlich macht sich die photoperiodische Vorgeschichte der Bäume auf die Ausbildung der Kälteresistenz unter verschiedener Photoperiode bemerkbar. Die an KT adaptierten Bäume reagierten rascher und stärker als alle anderen, gleichgültig, ob sie unter LT- oder KT-Bedingungen gekältet wurden, wobei die Wirkung im ersten Fall noch kräftiger war als im zweiten. Entsprechend wiesen die an LT adaptierten Bäume die langsamste und geringste Reaktion auf die Kältung auf, was sich auch noch bei Überführung in den KT auswirkte. Die unterschiedliche Situation zu Versuchsbeginn zeigte sich, wie zur selben Zeit bei den Jahresversuchen (Abb. 12, S. 45), in der etwas größeren Kälteresistenz der an KT adaptierten Bäume.

Vergleicht man noch die beiden Serien miteinander, so ergibt sich für das Klonmaterial (Serie II) allgemein eine deutlichere Reaktion als für das Material aus Saatgut (Serie I).

Die Ergebnisse zeigen die vorherrschende Rolle niedriger Temperaturen bei der Induktion der Kälteresistenz (vgl. ALDEN und HERMANN 1971); der Kältung folgte bei allen photoperiodischen Kombinationen eine mehr oder minder ausgeprägte Härtung. Die Beobachtungen anderer Autoren, daß die Härtungsreaktion auf niedrige Temperaturen durch Vorbehandlung mit KT beschleunigt wird (z.B. VAN HUYSTEE et al. 1967 für Cornus stolonifera, ZEHNDER und LANPHEAR 1966 für Taxus cuspidata und DORMLING 1971 für die Fichte) wurden dadurch auch bestätigt. Obwohl eine Vorbehandlung mit LT-Bedingungen die Induktion der Kälteresistenz durch niedrige Temperaturen negativ beeinflusste, konnte sie diese nicht aufheben. Diese Verhältnisse stimmen somit mit denen der Kälteresistenz unter LTA- und KTA-Bedingungen (siehe 3.2.2.1., S. 48) überein.

Die Feststellung des negativen Einflusses von höheren Lichtintensitäten auf die Härtung unter LT-Bedingungen widerspricht dem Befund von DORMLING (1971), daß niedrigere Lichtintensitäten (3000 Lux gegenüber 22 000 Lux) einen negativen Einfluß auf die Frosthärtung von Fichten unter 16 und 8 Std. Photoperioden hatten. Andererseits fanden STEPONKUS und LANPHEAR (1968), daß geringe Lichtintensitäten für maximale Härtung von Efeublättern ausreichend sind. Die vorliegenden Befunde untermauern die Annahme, daß die Rolle des Lichtes bei der Härtung der Fichte (s. SCHEUMANN und BÖRTITZ 1965) nicht photosynthetisch, sondern tatsächlich photoperiodisch ist.

3.2.4.1.2. Gesamt-N und alkohollöslicher N

Die N_G -Fraktion zeigte zum Teil relativ große Änderungen während der Kältung, die jedoch allgemein keine Korrelation mit den Änderungen der Kälteresistenz erkennen ließen. Die N_{AL} -Fraktion wies generell eine schwache Zunahme mit fortschreitender Versuchsdauer auf, die ebenfalls nicht signifikant mit dem Kälteresistenzgang korreliert zu sein schien.

3.2.4.1.3. Boratlöslicher Protein-N

Das Verhalten der prozentualen N_{BLP} -Fraktion der vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln zeigte eine eindeutige Korrelation mit dem Verlauf der Kälteresistenz-Induktion. Sie stieg mit Ausnahme der KTA $\rightarrow$ KT- und KTA $\rightarrow$ LT-Übergänge in etwa derselben Reihenfolge an, wie die Kälteresistenz, d.h. am stärksten beim NA $\rightarrow$ KT- und am schwächsten beim LTA $\rightarrow$ LT-Übergang. Bäume, die an KT adaptiert waren, wiesen bereits zu Versuchsbeginn einen meist höheren N_{BLP} -Gehalt auf, der dann natürlich nicht mehr im gleichen prozentualen Umfang zunehmen konnte, wie bei den nicht an KT adaptierten Bäumen. Die relative Steilheit der Kurven für die Zunahmen der Kälteresistenz und der N_{BLP} -Fraktion sind aber auch in anderen Fällen deutlich verschieden.

Die N_{BLP} -Zunahme eilte der Entwicklung der Kälteresistenz in vielen Fällen voraus. Die umgekehrten Verhältnisse wurden dagegen nicht beobachtet. Dies entspricht auch dem Befund, daß bei den an KT adaptierten Pflanzen, die zu Versuchsbeginn eine nur mäßig entwickelte Kälteresistenz zeigten, ein zum Teil bereits stark erhöhter, in einem Fall schon maximaler N_{BLP} -Gehalt vorlag.

Der bei der Besprechung der Induktion der Härtung schon erwähnte unterschiedliche Effekt von Schwach- und Starklicht bei den NA $\rightarrow$ LT-Pflanzen (s. 3.2.4.1.1., S. 87) findet sich ganz entsprechend im Verhalten der N_{BLP} -Fraktion wieder. Die stärkere Induktion der Kälteresistenz im Schwachlicht entspricht auch dem erheblich stärkeren Anstieg des N_{BLP} -Gehaltes gegenüber dem im Starklicht, während beim Übergang NA $\rightarrow$ KT kein derartig starker Unterschied zwischen den beiden Beleuchtungsstärken zu beobachten war.

3.2.4.2. Verwöhnung der Bäume der Serien I und II

Um die Reaktion von den unter natürlichen Temperaturverhältnissen gerade abgehärteten Bäumen auf eine künstliche Enthärtung zu untersuchen, wurden einzelne Bäume der Gruppen I und II NA, LTA und KTA am 24.11.1973, bei in der Regel gut entwickelter Kälteresistenz zur Zeit des ersten intensiven Kälteeinbruches des Winters (vgl. Abb. 8 und 12, S. 34 bzw. 45), in die warmen LT- und KT-Klimaräume (siehe 2.2.3., S. 8) überführt. Die Adaptionszeit der LTA- und KTA-Bäume an die LT- und KT-Photoperiode betrug zu dieser Zeit mehr als 3 Jahre (Bäume der Serie I) bzw. ca. 6 Monate (Serie II). Es ergaben sich also folgende Übergänge:

I	NA	→	LT	I	NA	→	KT
II	NA	→	LT	II	NA	→	KT
I	LTA	→	LT	I	LTA	→	KT
II	LTA	→	LT	II	LTA	→	KT
I	KTA	→	LT	I	KTA	→	KT
II	KTA	→	LT	II	KTA	→	KT

Die Kälteresistenz und die N-Fractionen der Nadeln dieser Bäume wurden über einen Zeitraum von 52 Tagen parallel und relativ häufig untersucht; eine letzte Untersuchung wurde zusätzlich nach 102 Tagen durchgeführt. Die Ergebnisse hinsichtlich der einzelnen Bäume sind in Abb. 30 bis 33 (siehe 7., S. 117 bis 120) aufgeführt. Die Ergebnisse hinsichtlich der Kälteresistenz und der prozentualen N_{BLP} -Fraktion sind zusammenfassend in Abb. 20 und 21 (s. 68 bzw. 69) dargestellt.

3.2.4.2.1. Kälteresistenz

Eine eindeutige, bleibende Enthärtung begann allgemein wesentlich früher unter LT- als unter KT-Bedingungen (mit Ausnahme der an LT adaptierten Bäume) und war in allen Fällen unter LT-Bedingungen auch eindeutig früher abgeschlossen. Die Enthärtung unter LT-Bedingungen verlief nach ihrem zum Teil verzögerten Einsetzen relativ gleichmäßig bis zum Erreichen einer Kälteresistenz von -5° nach spätestens 5 Wochen. Unter KT-Bedingungen erfolgte die Enthärtung von Versuchsbeginn an, oder ab einer kurzen Zeit danach, eine ausgeprägte Verzögerung und wurde in keinem Fall früher als nach 6,5 Wochen abgeschlossen, wobei eine Abnahme der Kälteresistenz auf -5° nicht in jedem Fall auch nach 7,5 Wochen beobachtet wurde.

VERWÖHNUNGSPROGRAMM (SERIE I)

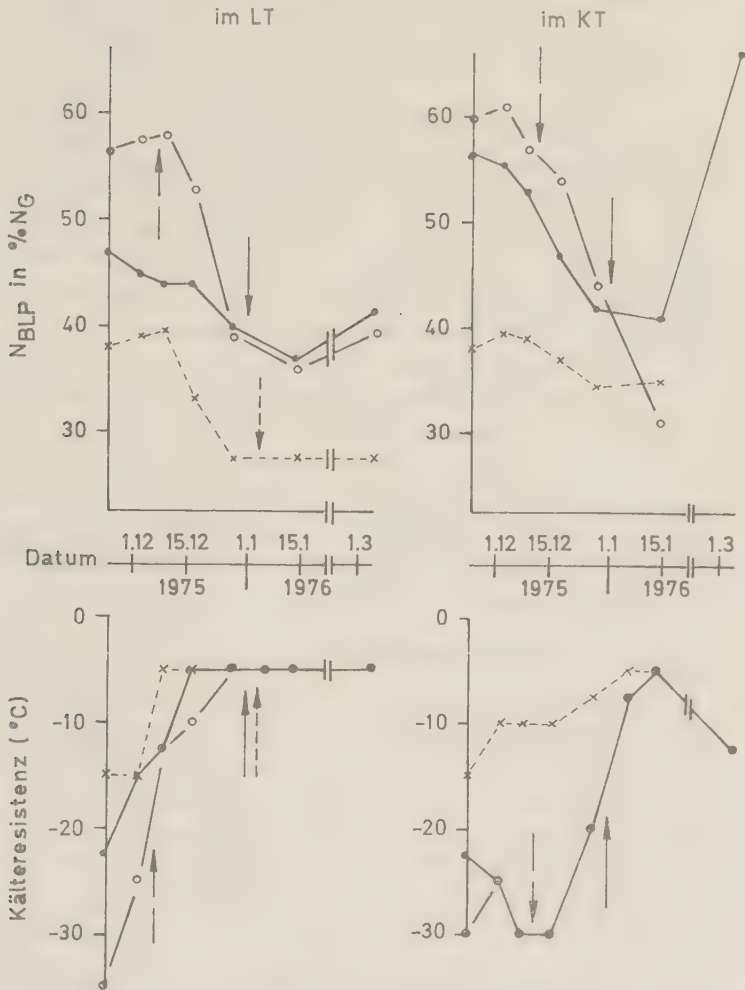


Abb. 20. Prozentualer N_{BLP} -Gehalt und Kälteresistenz der 1975 gebildeten Nadeln von Freilandbäumen der Serie I, die am 24.11.1975 in LTI- bzw. KTI-Bedingungen überführt und dort verwöhnt wurden (bei 20°C). Übergänge: ●—● : NA → LT bzw. KT, x---x : LTA → LT bzw. KT, o—o : KTA → LT bzw. KT. ↑, ↑ bzw. ↑ : Zeitpunkt des Austriebs.

VERWÖHNUNGSPROGRAMM (SERIE II)

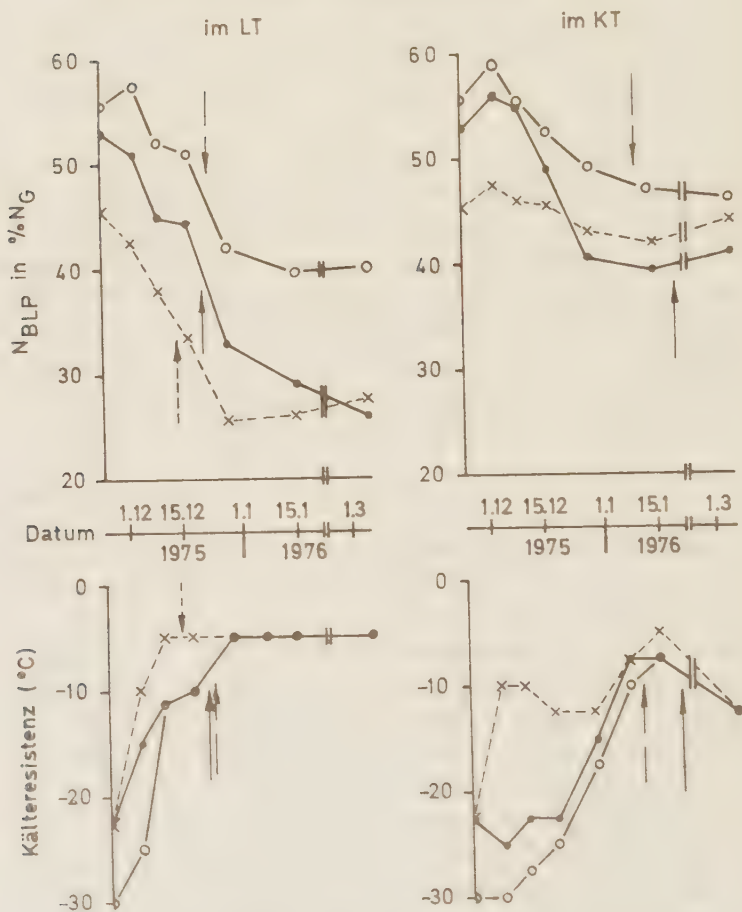


Abb. 21. Prozentualer N_{BLP} -Gehalt und Kälteresistenz der 1975 gebildeten Nadeln von Freilandbäumen der Serie II, die am 24.11.1975 in LTI- bzw. KTI-Bedingungen überführt und dort verwöhnt wurden (bei 20°C). Übergänge: ●—● : NA → LT bzw. KT, x—x : LTA → LT bzw. KT, o—o : KTA → LT bzw. KT. ↑, ↑ bzw. ↑ : Zeitpunkt des Austriebs.

Die Rest-Kälteresistenz nach der Enthärtung betrug -5° unter LT-Bedingungen, während unter KT-Bedingungen in allen Fällen am Ende des Versuches, nach 15 Wochen, erneut eine mäßige Härtung stattgefunden hatte.

Die Reaktion der an LT adaptierten Bäume auf die Umstellung in die Wärme war rascher als bei allen anderen, unabhängig von der Ausgangskälteresistenz. Unter LT-Bedingungen war die Enthärtung dieser Bäume nach 16 Tagen schon abgeschlossen, zu welcher Zeit ihre Kälteresistenz unter KT-Bedingungen erst auf -10° gefallen war. Die weitere Enthärtung der LTA-Bäume unter KT-Bedingungen vollzog sich erst nach langer Verzögerung etwa gleichzeitig mit der der übrigen Bäume. Die Bäume aus den NA- und LTA-Bedingungen ähnelten einander hinsichtlich ihres Kälteresistenzganges. Die Enthärtung dieser Bäume erfolgte unter LT-Bedingungen in ähnlicher Weise wie die der an LT adaptierten Bäume, erstreckte sich aber über einen längeren Zeitraum; unter KT-Bedingungen setzte eine eindeutige Enthärtung erst nach 5 Wochen ein, die dann relativ rasch verlief.

Diese Ergebnisse zeigen, daß das Auftreten höherer Temperaturen zu einer Enthärtung bei Bäumen gut entwickelter Kälteresistenz führte, wie es auch unter Freilandbedingungen der Fall ist. Unterschiedlich ist jedoch, daß die künstliche Enthärtung sowohl unter LT-Bedingungen als auch nach LT-Vorbehandlung rascher erfolgte als unter KT-Bedingungen bzw. bei NA- oder KT-Vorbehandlung. Diese Beeinflussbarkeit der Enthärtung durch die Photoperiode konnte unter Freilandbedingungen nicht festgestellt werden (siehe 3.2.2.1., S. 48). Die erneute Härtung der künstlich enthärteten Serie II-Bäume nach längerem Verbleib unter warmen KT-Bedingungen, aber deren Ausbleiben unter LT-Bedingungen (Abb. 21, S. 69), entspricht dem Kälteresistenzverhalten der langfristig in KTI- und LTI-Bedingungen stehenden Bäume derselben Serie (siehe 3.2.3.1., S. 53) und bestätigt somit die härtungsinduzierende Wirkung von KT-Bedingungen allein.

3.2.4.2.2. Gesamt-N und alkohollöslicher N

Die N_G -Fraktion blieb während der Verwöhnung meist relativ konstant und variierte wenig. Nur bei den Bäumen der Serie I aus den KTA-Bedingungen wies sie eine deutliche und ständige Abnahme auf. Die N_{AL} -Fraktion zeigte ebenfalls nur geringe Schwankungen. Die N_G - und N_{AL} -Fraktion zeigten keine Korrelation mit der Kälteresistenz.

3.2.4.2.3. Boratlöslicher Protein-N

Das Verhalten des prozentualen N_{BLP} -Gehaltes zeigte eine eindeutige Korrelation mit dem Verlauf der Enthärtung; bei der anschließenden erneuten Härtung unter KT-Bedingungen wurde eine entsprechende Korrelation nur zum Teil angedeutet.

Die relative Steilheit der Kurven für die Abnahme bzw. Zunahme der Kälteresistenz und für die des entsprechenden N_{BLP} -Gehaltes ist vielfach deutlich verschieden. Bei den Bäumen der Serie I nahm der N_{BLP} -Gehalt jedoch in etwa derselben Reihenfolge ab wie die Kälteresistenz, d.h. am stärksten bei den Bäumen aus den KTA und am schwächsten bei den Bäumen aus den LTA-Bedingungen. Bei den Bäumen der Serie II, bei denen die Ausgangslage der Kälteresistenz nicht so unterschiedlich war, war eine solche quantitativ enge Korrelation nicht ersichtlich; dies traf ebenfalls für die Verhältnisse bei der anschließenden Abhärtung unter KT-Bedingungen zu.

Mit Ausnahme des I LTA→KT-Übergangs war die Abnahme des N_{BLP} -Gehaltes bei gleichem Kälteresistenzverlust unter LT-Bedingungen etwas größer als unter KT-Bedingungen. Vergleicht man die beiden Serien miteinander, so reagiert mit Ausnahme der KTA-Bäume das Klonmaterial etwas stärker als das Material aus Saatgut.

Die Enthärtung eilte unter LT-Bedingungen der Abnahme des N_{BLP} -Gehaltes voraus, was bei den Bäumen der Serie I ausgeprägter war. Bei diesen Bäumen fand auch der endgültige Abschluß der N_{BLP} -Abnahme erst statt, nachdem die Enthärtung schon vollzogen war. Unter KT-Bedingungen waren die Verhältnisse nicht so eindeutig. Bei den Bäumen der Serie II war ein Vorseilen der N_{BLP} -Fraktion nur beim LTA-Baum angedeutet; ansonsten schien die Abnahme von Kälteresistenz und N_{BLP} -Gehalt synchron zu laufen. Bei den Bäumen der Serie I wurde die starke Verzögerung der Enthärtung nicht durch die früh abnehmenden N_{BLP} -Werte widerspiegelt, wobei die Abschlußwerte von Kälteresistenz und N_{BLP} -Gehalt jedoch etwa gleichzeitig beobachtet wurden.

3.2.4.2.4. Austrieb

In der Regel trieben die Bäume nach oder kurz vor dem Abschluß der Enthärtung und der wesentlichen Abnahme des prozentualen N_{BLP} -Gehaltes der Nadeln aus. Nur die Bäume der Serie I aus den KTA-Bedingungen trieben schon bei noch ausgeprägter Kälteresistenz und hohem N_{BLP} -Gehalt der Nadeln aus.

Unter KT-Bedingungen trieben die Bäume aus den LTA-Bedingungen gar nicht aus; die Bäume aus den KTA-Bedingungen trieben früher als die aus den NA-Bedingungen aus. Unter KT-Bedingungen trieben die Bäume der Serie I früher als die der Serie II aus. Die Verhältnisse unter LT-Bedingungen waren nicht so einheitlich: Bei den Bäumen der Serie I war die Reihenfolge des Austriebs völlig anders als bei den Bäumen der Serie II.

Daß der Austrieb zum Teil bei hohen Kälteresistenzwerten erfolgte und in anderen Fällen bei völliger Enthärtung ausblieb, ist ein Hinweis dafür, daß die Enthärtung nicht streng, oder nicht in einheitlicher Weise, mit dem Brechen der Knospenruhe zusammenhängt (vgl. VAN DEN DRIESCH 1969).

3.2.4.3. Verwöhnung und anschließende Kältung der Bäume der Serie III

Als Ergänzung zum Verwöhnungsversuch vom November 1975 mit den Bäumen der Serien I und II (siehe 3.2.4.2., S. 66), wurden einzelne Bäume der Gruppen III NA, LTA und KTA am 6.12.1976, zu einer Zeit, zu der ihre Kälteresistenz bei niedrigen Temperaturen schon gut entwickelt war (vgl. Abb. 14, S. 47), in die warmen LT- und KT-Klimaräume (siehe 2.2.3., S. 8) überführt. Die LTA- und KTA-Bäume hatten zu Versuchsbeginn nur 3 Monate Adaptionszeit an ihre spezifischen photoperiodischen Verhältnisse gehabt (vgl. 3 Jahre bzw. 6 Monate Adaptionszeit bei den entsprechenden Bäumen der Serie I bzw. II). Es ergaben sich also folgende 6 Übergänge:

NA → LT	NA → KT
LTA → LT	LTA → KT
KTA → LT	KTA → KT

Die Kälteresistenz, die N-Fractionen und die Einbauraten von Leucin in die boratlösliche Proteinfraction wurden über einen Zeitraum von 60 Tagen unter den Verwöhnungsbedingungen untersucht.

Als Ergänzung zum Kältungsversuch von September 1975 mit den kurz vor der natürlichen herbstlichen Abhärtung stehenden Bäumen der Serie I und II (siehe 3.2.4.1., S. 60) wurden die gerade völlig enthärteten Bäume des obigen Verwöhnungsversuches anschließend in Starklicht-Klimakammern (siehe 2.2.4., S. 9) überführt und gekältet, wobei die Photoperioden des Verwöhnungsversuches beibehalten wurden. Die Kältungstemperaturen betrugen 15° (Lichtperiode) bzw. 5° (Dunkelperiode) während der ersten 11 Tage (Vorkältung) und 10° bzw. 0° danach. Die gleichen Untersuchungen wie bei der vorhergehenden Verwöhnung wurden über einen Zeitraum von 59 Tagen unter den Kältungsbedingungen durchgeführt.

Die Ergebnisse der Untersuchung der einzelnen Bäume bei Verwöhnung und anschließender Kältung sind in Abb. 34 bis 36 (siehe 7., S. 121 bis 123) dargestellt. Die Angaben zur Kälteresistenz, zu den prozentualen N_{BLP} -Fraktionen und zur Einbaurate von Leucin in die boratlösliche Proteinfraction sind vergleichend für die LT- und KT-Versuchsbedingungen in Abb. 22 bzw. 23 (S. 75 bzw. 76) dargestellt.

Die N_{AL} -Fraktion, die sich in den Jahresgangversuchen nur langsam und in den Kältungs- und Verwöhnungsversuchen mit den Bäumen der Serien I und II kaum geändert hatte, wurde aus arbeitstechnischen Gründen nicht untersucht: Aufgrund des Gehaltes zur Zeit des Versuchsbeginns wurde in allen Fällen mit einem mittleren Wert von 7,5 % N_G gerechnet.

3.2.4.3.1. Kälteresistenz

Die Enthärtung der Serie III-Bäume bei Verwöhnung verlief in allen Fällen im wesentlichen sehr ähnlich. Die Kälteresistenz zu Versuchsbeginn, die in allen Fällen zwischen $-27,5^{\circ}$ und $-32,5^{\circ}$ lag, war nach 4 Wochen jeweils auf 0° gefallen und blieb zwischen 0° und -5° bis zum Ende der Verwöhnung. Der spezifische Verlauf der Enthärtung zeigte auch allgemein gültige Züge. In allen Fällen fiel die Kälteresistenz während der ersten Wochen nach dem Verwöhnungsbeginn etwas ab, wonach eine Verzögerung der weiteren Enthärtung zu beobachten war; anschließend fiel die Kälteresistenz in etwa kontinuierlich bis zum Abschluß der Enthärtung wieder ab.

Eine differenzierende Wirkung der Photoperiode auf die Enthärtung war lediglich in einer etwas stärkeren Kälteresistenzabnahme während der ersten Woche, sowie in einem schnelleren Ansatz der endgültigen Enthärtung unter LT- als unter KT-Bedingungen zu sehen. Die photoperiodische Vorgeschichte der Bäume machte sich nur in einer längeren und bei höheren Kälteresistenzwerten stattfindenden Ver-

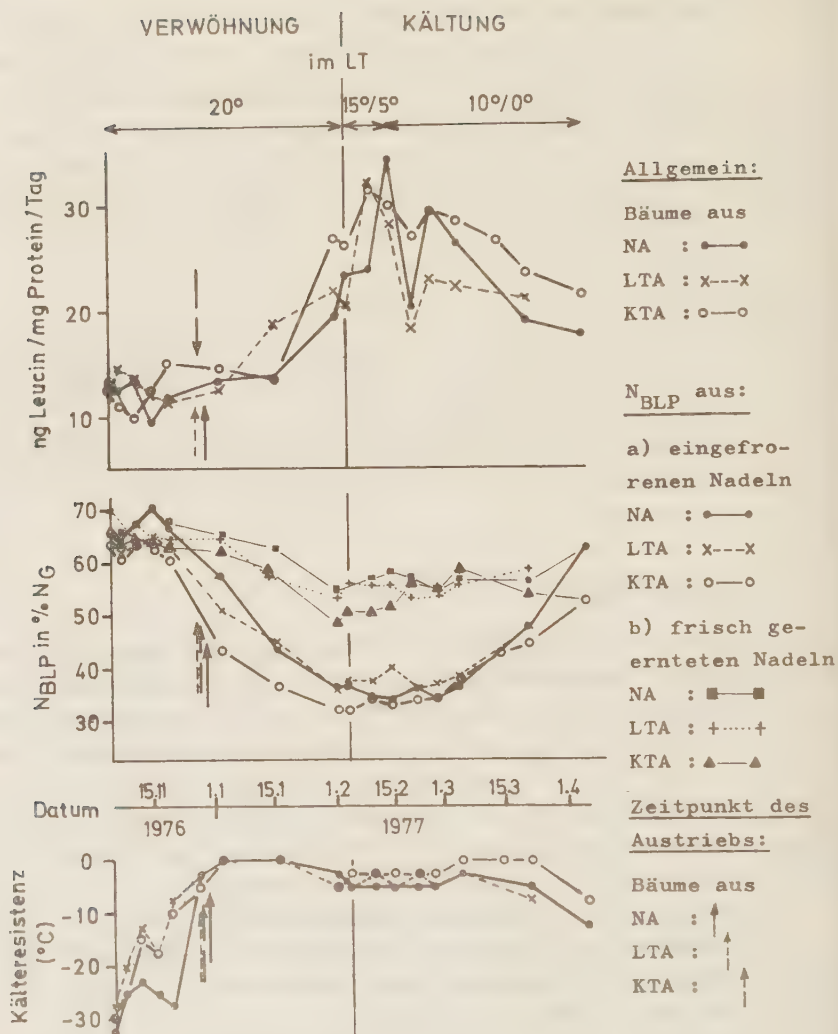


Abb. 22. Prozentualer N_{BLP}-Gehalt, Kälteresistenz und Leucineinbaurate der 1976 gebildeten Nadeln von Freilandbäumen der Serie III, die vom 6.12.1976 bis zum 1.2.1977 in LT-Bedingungen bei 20°C verwöhnt und anschließend bis zum 4.4.1977 bei gleichbleibender Photoperiode gekältet wurden. 15°/5° bzw. 10°/0°: Tag-/Nachttemperaturen bei der Kältung

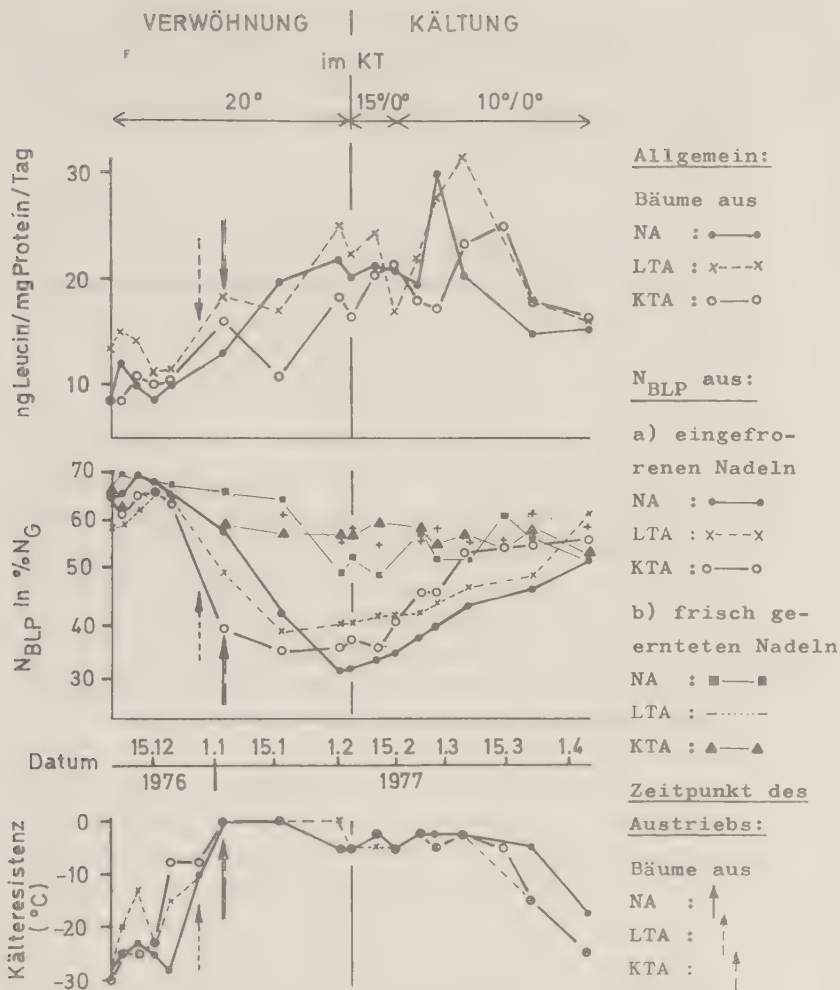


Abb. 23. Prozentualer N_{BLP} -Gehalt, Kälteresistenz und Leucineinbaurate der 1976 gebildeten Nadeln von Freilandbäumen der Serie III, die vom 6.12.1976 bis zum 1.2.1977 in KT-Bedingungen bei 20°C verwöhnt und anschließend bis zum 4.4.1977 bei gleichbleibender Photoperiode gekältet wurden. 15°/5° bzw. 10°/0°: Tag-/Nachttemperaturen bei der Kältung.

zögerungsphase der Enthärtung bei den Bäumen aus den NA- gegenüber denen aus den LTA- und KTA-Bedingungen bemerkbar. Angesichts des überall gleichzeitigen Abschlusses der Enthärtung waren diese Unterschiede jedoch nur geringfügig.

Bei der anschließenden Kältung wurde während der ersten 5,5 Wochen in keinem Fall eine signifikante Änderung der Kälteresistenz beobachtet. Die dann einsetzende Härtung, die ab 7,5 Wochen beobachtet wurde (vgl. ab ca. 3,5 Wochen bei der Kältung der Bäume der Serie II im September 1975: Abb. 19, S.63), entwickelte sich rascher unter KT- als unter LT-Bedingungen.

Die Kälteresistenz der Bäume aus den NA-Bedingungen verhielt sich unter LT- und KT-Bedingungen fast identisch, außer daß die Abhärtung am letzten Versuchstag unter KT-Bedingungen etwas höher war. Im Vergleich hierzu erbrachte die vorherige Adaption an LT sowohl unter LT- als auch unter KT-Bedingungen ein rascheres Einsetzen der Härtung, wogegen dies bei den vorher an KT adaptierten Bäumen nur unter KT-Bedingungen der Fall war.

Die härtende Wirkung niedriger Temperaturen ungeachtet der photoperiodischen Bedingungen bzw. Vorgeschichte, die bei den kurz vor der natürlichen Härtung stehenden Bäumen der Freilandversuche im Herbst (siehe 3.2.2.1., S. 48) und der Kältung der Serie II-Bäume (siehe 3.2.4.1.1., S. 61) deutlich zum Ausdruck kam, wurde somit auch mit den gerade enthärteten Bäumen der Serie III bestätigt. Die bei den gekälteten Serie II-Bäumen festgestellte besser härtungsfördernde Wirkung von KT- gegenüber LT-Bedingungen war auch offenbar. Die in 3.2.2.1. und 3.2.4.1.1. besprochene besser härtungsfördernde Wirkung von KT- gegenüber LT-Vorbehandlung kam jedoch bei den Serie III-Bäumen nicht zum Ausdruck. Die Enthärtung der Serie III-Bäume war mit der der Freilandbäume (siehe 3.2.2.1.) vergleichbar, indem allein die höheren Temperaturen ausschlaggebend zu sein schienen. Die besser enthärtungsfördernde Wirkung

von LT-Bedingungen und -Vorbehandlung, die bei der Verwöhnung der Serie II-Bäume deutlich hervortrat (siehe 3.2.4.2.1., S. 67), war dagegen nicht bzw. kaum zu erkennen.

3.2.4.3.2. Gesamt-N

In allen Fällen blieb die N_G -Fraktion relativ konstant auf einem für alle Bäume etwa gleich hohem Niveau und zeigte somit keine Korrelation mit der Kälteresistenz.

3.2.4.3.3. Boratlöslicher Protein-N

Die prozentuale N_{BLP} -Fraktion der vor der Extraktion nicht eingefrorenen Nadeln fiel nach anfänglicher Verzögerung im Laufe der Verwöhnung etwas ab und zeigte somit eine nur schwach ausgeprägte Korrelation mit der Kälteresistenz während dieses Zeitraums. Während der anschließenden Kältung blieb die N_{BLP} -Fraktion dieser Nadeln relativ konstant und zeigte somit keine eindeutige Korrelation mit der Kälteresistenz. Signifikant erscheinende Unterschiede hinsichtlich der photoperiodischen Vorgeschichte oder der photoperiodischen Verhältnisse des Versuches waren ebenfalls nicht ersichtlich. Die weitgehende Unabhängigkeit der gesamt extrahierbaren Menge an N_{BLP} von dem Kälteresistenzzustand entspricht den Verhältnissen bei den Bäumen unter Freilandbedingungen (siehe 3.2.2.4., S. 50).

Das Verhalten der N_{BLP} -Fraktion der vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln zeigte dagegen bei der Verwöhnung eine deutliche Korrelation mit der Abnahme der Kälteresistenz. Der anfänglichen Verzögerung der Enthärtung entsprach auch ein konstantes, Kältestabilität anzeigendes Niveau der N_{BLP} -Fraktion. Bei der Schlußphase der Enthärtung setzte dann eine deutliche Abnahme der N_{BLP} -Fraktion der vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln ein, sowohl hinsichtlich des Gehaltes als auch relativ zur N_{BLP} -Fraktion der nicht eingefrorenen Nadeln, die später

als der Abschluß der Enthärtung vollzogen war. Die Enthärtung eilte der entsprechenden Abnahme der kältestabilen N_{BLP} -Fraktion also voraus, wobei dies etwas ausgeprägter unter LT- als unter KT-Bedingungen war. Eine eindeutige Differenzierung des Verhaltens des kältestabilen N_{BLP} aufgrund der photoperiodischen Vorgeschichte der Bäume war nicht ersichtlich.

Das Verhalten der N_{BLP} -Fraktion der vor der Extraktion nicht eingefrorenen Nadeln zeigte auch bei der anschließenden Kältung eine deutliche, aber quantitativ nicht so klare Korrelation mit der zum Schluß verzeichneten Zunahme der Kälteresistenz. In allen Fällen eilte die Zunahme der kältestabilen N_{BLP} -Fraktion der stark verzögerten (ca. 6 Wochen nach dem Beginn der Kältung) Abhärtung voraus, wobei dies wesentlich früher unter KT-Bedingungen (schon während der ersten Woche der Kältung) als unter LT-Bedingungen (erst nach 3 bis 4 Wochen) ersichtlich war. Am Versuchsende hatte die kältestabile N_{BLP} -Fraktion das Niveau des N_{BLP} der vor der Extraktion nicht eingefrorenen Nadeln erreicht (außer beim nicht prüfbaren Fall des Übergangs LTA→LT), welcher Kältestabilität anzeigende Zustand in Verbindung mit einem weiten Bereich an Kälteresistenzwerten erreicht wurde und einzig im Falle des Übergangs KTA→KT schon vor dem Ende der Versuchszeit festgestellt wurde. Diese Kältestabilisierung der boratlöslichen Proteinfraktion schien dort mit besonders niedrigen Kälteresistenzwerten gekoppelt zu sein, wo eine Adaption an KT dem Versuch vorausgegangen war (vgl. Abb. 14, S. 47: Herbst 1977).

3.2.4.3.4. Einbau von Leucin in die boratlösliche Proteinfraktion

Nach Überführung der Bäume in die warmen LTI- und KTI-Bedingungen nahm die Einbaurate von Leucin in die boratlösliche Proteinfraktion der vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln nach anfänglicher Verzögerung von niedrigen Anfangswerten (bei niedrigen Freilandtemperaturen:

Siehe Abb. 14, S. 47) bis zum Ende der Verwöhnungsperiode zu. Diese Steigerung der Proteinsyntheseaktivität war bei allen Photoperiodekombinationen in nicht sehr unterschiedlichem Maße zu beobachten und scheint in erster Linie den höheren Temperaturen zuzuschreiben zu sein. Der Gang der Einbaurrate zeigte keine enge zeitliche Übereinstimmung mit dem Verlauf der Enthärtung, und eine negative Korrelation mit dem Gang des prozentualen kältestabilen N_{BLP} -Gehaltes.

Bei der anschließenden Kältung setzte sich in allen Fällen unter LT-Bedingungen diese Zunahme der Leucineinbaurrate zunächst ununterbrochen fort, worauf bei der verschärften Kältung eine allgemeine Abnahme folgte. Unter KT-Bedingungen erfolgte auch bei allen Bäumen ein weiterer Anstieg der Einbauwerte, jedoch erst etwa zwei Wochen nach Beginn der Kältung; dieser Zunahme folgte ebenfalls eine Abnahme der Einbaurrate. Es scheint somit, daß die niedrigen Temperaturen der Kältung in erster Linie eine Drosselung der Proteinsyntheseaktivität bewirken, wobei dieser negative Einfluß sich erst nach einer gewissen, offenbar photoperiodisch beeinflussbaren Einwirkungszeit durchsetzt. Der Gang der Einbaurrate zeigte weniger Parallelität mit dem der Kälteresistenz und des kältestabilen N_{BLP} -Gehaltes als im Falle der Verwöhnung.

Die Befunde hinsichtlich des Leucineinbaus in die Proteine der boratlöslichen Fraktion bei künstlicher Verwöhnung und Kältung bestätigen allgemein die, die für die Bäume unter Freilandbedingungen festgestellt wurden (siehe 3.2.1.5. und 3.2.2.5., S. 40 bzw. 52), nämlich, daß das Verhalten der Einbaurrate im wesentlichen der für Stoffwechselprozesse charakteristischen Reaktion auf die Temperaturverhältnisse der Umgebung entspricht: Ein Wechsel zu wärmeren Bedingungen fördert, das Auftreten niedrigerer Temperaturen hemmt die Aktivität. Wie unter Freilandbedingungen konnten keine grundlegenden Unterschiede im Verhalten der Einbaurrate hinsichtlich der photoperiodischen Vorgeschichte beobachtet werden, die

in Beziehung zu etwaigen diesbezüglichen Unterschieden im Gang der Kälteresistenz oder des N_{BLP} -Gehaltes gebracht werden konnten.

Die vorübergehende Erhöhung der Einbaurate, die im Herbst unter Freilandbedingungen angedeutet wurde (Abb. 12, S. 45), hatte auch bei der Kältung unter KT-Bedingungen, sowie in geringerem Maße unter LT-Bedingungen, eine Parallele, nämlich eine vorübergehende Steigerung der Syntheseaktivität kurz vor dem Einsetzen der Härtung. Die härtungskorrelierte Zunahme des kältestabilen N_{BLP} -Gehaltes war, wie bei allen Freilandbäumen, auch bei der Kältung unter KT-Bedingungen zur Zeit dieses Anstiegs schon im Gange. Die in 3.2.1.5. (S. 40) angesprochene Möglichkeit eines Zusammenhanges zwischen Härtung/ N_{BLP} -Zunahme und gesteigerter Proteinsynthese wird somit unterstrichen.

3.2.4.3.5. Austrieb

Allgemein trieben die Bäume während der Verwöhnung bei weitgehender oder gerade abgeschlossener Enthärtung (Kälteresistenz von 0° bis -5°) aber noch relativ hohen Werten für die N_{BLP} -Fraktion der vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln. Die Abnahme der N_{BLP} -Fraktion dieser Nadeln war nur im Falle des Austriebs beim KTA→KT-Übergang schon praktisch abgeschlossen, und ein Austrieb zur Zeit einer noch etwas ausgeprägteren Kälteresistenz (-10°) wurde nur im Falle des LTA→KT-Übergangs vermerkt. Im allgemeinen war keine so ausgeprägte Differenzierung der Begleitumstände des Austriebs, wie bei Verwöhnung der Bäume der Serien I und II im November 1975, zu beobachten. Überraschend war der frühe Austrieb des ehemaligen LTA-Baumes unter KT-Bedingungen: Die Bäume mit dieser Vorbehandlung trieben unter den entsprechenden Umständen im Verwöhnungsversuch mit den Serie I- und -II-Bäumen gar nicht aus (siehe 3.2.4.2.4., S. 72).

Einfluß von Kälte auf die boratlösliche Proteinfraction

Die Abhängigkeit der Extrahierbarkeit des boratlöslichen Protein-N aus den vor dem Zerreiben bei -20°C eingefrorenen Nadeln, aber nicht von den unmittelbar nach der Ernte zerriebenen Nadeln, vom Kälteresistenzzustand der Nadeln ist im Abschnitt 3.2. ausführlich dokumentiert. Die mit diesem Phänomen offensichtlich zusammenhängende Kältedenaturierung der boratlöslichen Proteinfraction frostempfindlicher Nadeln wurde im folgenden näher untersucht.

Einfluß des Einfrierens des Boratpufferhomogenats vor der Extraktion

Die in 3.1. und 3.2. beschriebenen Befunde hinsichtlich des N-Gehalts der boratlöslichen Proteinfraction wurden aus arbeitstechnischen Gründen unter Einfrieren des Boratpufferhomogenats nach dem Zerreiben der Nadeln ermittelt (siehe 2.5.4., S. 17). Um den Einfluß dieses Einfrierens zu untersuchen, wurden frisch hergestellte Boratpufferhomogenate von vor dem Zerreiben eingefrorenen und frisch geernteten Fichtennadeln unterschiedlicher Kälteresistenz sowohl sofort und ohne jegliches Einfrieren als auch nach Einfrieren bei -20°C wie üblich mit Boratpuffer extrahiert. Tab. 2 (S. 83) gibt den prozentualen N-Gehalt der jeweils extrahierten Proteinmenge an.

Bei relativ stark entwickelter Kälteresistenz (mehr als -10°) waren die N_{BLP} -Werte nach allen Behandlungen etwa gleich hoch. Bei minimaler oder schwach ausgeprägter Kälteresistenz (weniger als -10°) war der N_{BLP} -Gehalt der Nadeln, die vor dem Zerreiben eingefroren wurden, deutlich niedriger als der der Nadeln, die unmittelbar nach der Ernte zerrieben wurden. Ein großer Einfluß des Einfrierens des Homogenats gegenüber dem sofortigen Extrahieren nach dem Zerreiben konnte dabei nicht festgestellt werden: Im

allgemeinen war der N_{JLP} -Wert beim Einfrieren des Homogenats nur sehr wenig niedriger. Die Extrahierbarkeit des N_{JLP} wurde also nicht signifikant vom Einfrieren des Boratpufferhomogenats beeinflusst. Die boratlösliche Proteinfraktion scheint somit im basischen, gepufferten Medium kälteunempfindlich zu sein.

Baum bzw. Bäume	Nadel- jahr- gang	Datum	Kälte- resi- stenz	Extrahiertes Protein-N in % des Gesamt-N			
				a	b	c	d
60-jäh- riger Baum	1977	26.10.77	- 5°C	54	53	34	34
		14. 1.78	-40°C	53	52	52	49
II LTA	1977	30.10.77	0°C	59	54	28	26
	1976	21.11.77	-15°C	57	56	58	56
II KTA	1977	30.10.77	- 8°C	62	59	48	44
	1976	21.11.77	-23°C	60	60	62	60
II I II	1975	21.11.77	0°C	59	56	45	42

Tab. 2. Einfluß des Einfrierens der Nadeln bzw. des Homogenats bei -20°C auf die Extrahierbarkeit des boratlöslichen Proteins aus Fichtennadeln von Bäumen verschiedener Kälteresistenz.

- a = Nadeln sofort nach der Ernte zerrieben, Extraktion sofort nach dem Zerreiben durchgeführt.
- b = Nadeln sofort nach der Ernte zerrieben, Extraktion nach 24-stündigem Einfrieren des Homogenats.
- c = Nadeln nach 24-stündigem Einfrieren zerrieben, Extraktion sofort nach dem Zerreiben.
- d = Nadeln nach 24-stündigem Einfrieren zerrieben, Extraktion nach 24-stündigem Einfrieren des Homogenats.

der Nadeln

Das Einfrieren der Nadeln vor dem Zerreiben mit Boratpuffer, bei welcher Behandlung alle Nadelproben untersucht wurden, erfolgte aus arbeitstechnischen Gründen routinemäßig bei -20°C und über mindestens einen Tag. Um den Einfluß der Temperatur und der Dauer dieses Einfrierens auf die frostempfindlichen Nadeln (der N_{BLP} -Gehalt der kälteresistenten Nadeln blieb auch beim Einfrieren in flüssigem N und bei ausgedehnter Lagerung bei -20°C unbeeinflusst), wurden ungehärtete Nadeln des 60jährigen Baumes bei einem relativ weiten Bereich an niedrigen Temperaturen gelagert und anschließend mit Boratpuffer zerrieben und (nach Einfrieren des Homogenats, siehe 3.3.1., S. 82) extrahiert. Als Kontrolle diente eine sofort nach der Ernte zerriebene Nadelprobe. Die jeweils extrahierbare N_{BLP} -Menge ist in Tab. 3 (S. 85) angegeben.

Das Lagern der Nadeln bei hohen Temperaturen erbrachte keine signifikante Erniedrigung des prozentualen N_{BLP} -Gehaltes. Nach dem Einfrieren auf tiefere Temperaturen war der N_{BLP} -Gehalt jedoch bedeutend niedriger und betrug ab -10°C nurmehr 50-60 % des N_{BLP} -Gehaltes der nicht eingefrorenen Nadeln. Da die Kälteresistenz der Nadeln -5°C betrug, verursachte jede Lagerungstemperatur niedriger als der Resistenzwert eine verminderte Löslichkeit des boratlöslichen Proteins. Die Intensität der Kälte jenseits dieser Temperaturschwelle hatte dann aber keinen weiteren signifikanten Einfluß mehr auf den N_{BLP} -Gehalt. Auch die Dauer der Kaltlagerung schien unbedeutend zu sein. Bei -20°C war die verminderte Löslichkeit der boratlöslichen Proteine schon nach einer Stunde festzustellen und war auch nach drei Monaten noch ungeändert.

Lagerungs- tempe- ratur °C	Lagerungszeit							
	in Stunden					in Wochen		
	0	1	3	8	24	1	4	12
20	53							
5			53	49	51			
0			53		49			
-3			52		50			
-10			33		29			
-20		32	30	30	29	31	20	30
-30			27		30			
-50			26		29			
-190			25					

Tab. 3. Abhängigkeit der Extrahierbarkeit des borat-löslichen Proteins von der Lagerungstemperatur und -dauer der Nadeln. Boratlöslicher Protein-N aus ungehärteten vorjährigen Nadeln (Kälteresistenz -5° am 15.6.1977) der 60jährigen Fichte in % des Gesamt-N.

3.3.3. Einfluß von Kälte auf die boratlösliche Proteinfraction isolierter Fichtenchloroplasten

Die Isolierung intakter Fichtenchloroplasten ermöglichte die Extraktion der löslichen Proteinfraction dieser Organellen und die Untersuchung der Wirkung von Kälte auf die Löslichkeit dieser mengenmäßig wichtigen Blattproteine (v.a. Fraktion I Protein: Siehe KAWASHIMA und WILDMAN 1970), die in analoger Weise zu den Untersuchungen an den intakten Nadeln durchgeführt werden.

Chloroplasten wurden aus 10 g-Portionen der frostempfindlichen Nadeln des alten Baumes nach SENSER und BECK (1978) isoliert und, ohne daß sie osmotisch aufgebrochen wurden, in 6 ml Boratpuffer (siehe 2.3.4., S. 17) suspendiert.

0,1 ml dieser Suspension wurde jeweils zur N_G - und Chlorophyllbestimmung entnommen und der Rest zur Boratextraktion verwendet. Der N_G -, N_{BL} - und N_{BLP} -Gehalt der Chloroplasten wurde mittels der Ultramikromethode (siehe 2.5.5.2., S. 20) bestimmt. Der N_{BLP} -Gehalt wurde durch Ausfällung der im Boratextrakt enthaltenen Proteine durch Ansäuerung des Extraktes mit 0,1 n HCl auf pH 4,3 und Bestimmung des N-Gehaltes des gefällten Proteins ermittelt (vgl. 3.3.4., S. 88): Der N_{BLP} -Gehalt betrug in allen Fällen ca. 50 % des N_{BL} -Gehaltes. Der Chlorophyllgehalt der Chloroplasten wurde durch das Mischen von 0,1 ml der Suspension mit 3 ml Methanol und das Messen der Extinktion des Überstandes der abzentrifugierten Mischung bei 663 und 645 nm bestimmt.

Die Extraktion der boratlöslichen Proteine konnte in vierfacher Weise durchgeführt werden, je nachdem, ob die Nadeln vor der Chloroplastenisolierung eingefroren wurden oder ob die isolierten Chloroplasten zunächst eingefroren oder sofort im Boratpuffer suspendiert und extrahiert wurden. Diese Behandlungen sind analog zu denen, die in Tab. 2., S. 83 für die intakten Nadeln beschrieben sind.

Tab. 4 (S. 87) zeigt die Wirkung von -20°C auf die Löslichkeit der N_{BLP} -Fraktion ganzer Nadeln und die der isolierten Chloroplasten dieser Nadeln. Zunächst wurde der Einfluß des Einfrierens der Nadeln vor dem Aufschließen, beim Einfrieren der Boratpuffer Homogenate bzw. der isolierten Chloroplasten, geprüft (Ergebnisse für Juli). Obwohl der prozentuale N_{BLP} -Gehalt der vor dem Zerreiben eingefrorenen ganzen Nadeln im Einklang mit der minimalen sommerlichen Kälteresistenz viel niedriger war als im Falle der nicht eingefrorenen Nadeln, war der N_{BLP} -Gehalt der Chloroplasten fast identisch, gleichgültig, ob die Nadeln vor der Isolierung eingefroren wurden oder nicht. Im Herbst, bei noch sehr geringer Kälteresistenz der Nadeln, wurde der Einfluß des Einfrierens der isolierten Chloroplasten

vor ihrer Extraktion mit Boratpuffer parallel zu den entsprechenden Verhältnissen bei den ganzen Nadeln geprüft. Wiederum war der N_{BLP} -Gehalt der Chloroplasten unter allen Behandlungsbedingungen fast identisch. Diese Verhältnisse galten auch bei Bezug der N_{BLP} -Werte auf Chlorophyll. Weder das Einfrieren der intakten Nadeln noch das der isolierten Chloroplasten selbst hatte also einen Einfluß auf die Extrahierbarkeit der boratlöslichen Proteinfraction der Chloroplasten frostempfindlicher Nadeln. Die Denaturierbarkeit der boratlöslichen Proteinfraction der ganzen Nadeln konnte somit nicht mit Chloroplastenproteinen in Zusammenhang gebracht werden.

Datum	Nadel- resi- stenz	Unter- sucht	Extrahiertes Protein-N in % des Gesamt-N			
			a	b	c	d
11.7.77	0°C	Nadeln		55		25
		Chloro.		27		29
13.7.77	0°C	Nadeln		54		29
		Chloro.		30		28
27.10.77	-5°C	Nadeln	52	49	36	32
		Chloro.	23	23	19	22

Tab. 4. Einfluß des Einfrierens der Nadeln bzw. deren Boratpufferhomogenate bzw. isolierten Chloroplasten bei -20°C auf die Extrahierbarkeit des boratlöslichen Proteins aus den ungehärteten, 1977 gebildeten Nadeln bzw. deren isolierten Chloroplasten der 60jährigen Fichte.

a-d: Für Nadeln wie in Tab. 2., S. 83.

Für Chloroplasten: Wie in Tab. 2, wobei jedoch die Nadeln zur Chloroplastenisolierung aufgeschlossen wurden (statt "zerrieben") und die Extraktion sofort bzw. nach Einfrierung der isolierten Chloroplasten (statt "Homogenate") durchgeführt wurde.

Kältedenaturierung des ausgefällten boratlöslichen Proteins

Um das Verhalten des boratlöslichen Proteins aus ungehärteten und gehärteten Nadeln näher zu untersuchen, wurde das extrahierte Protein durch Titration auf den isoelektrischen Punkt (pH 4,3) mit HCl ausgefällt, abzentrifugiert und über Nacht im sedimentierten (dicht gepackten), aber feuchten Zustand bei verschiedenen niederen Temperaturen gehalten. Am nächsten Tag wurde das Protein wieder mit Boratpuffer versetzt und zwei Stunden bei 30°C inkubiert. Nach dem Abzentrifugieren des unlöslichen Anteils wurde der N-Gehalt des Überstandes und des Sediments nach der Ultramikromethode bestimmt. 40 % der ursprünglichen Menge an Boratpuffer wurden dem Protein zur Wiederaufnahme zugesetzt, nachdem in Vorversuchen offenbar wurde, daß die Zugabe der ursprünglichen Menge ausnahmslos zur vollständigen Wiederaufnahme führte.

Tab. 5 (S. 89) zeigt das Ausmaß der durch verschiedene tiefe Temperaturen hervorgerufenen Löslichkeitsverminderung des boratlöslichen Proteins aus nicht eingefrorenen und eingefrorenen Nadeln von Bäumen verschiedener Härtpprägung. Die Menge des boratlöslichen Proteins, die aus diesen Nadelproben jeweils extrahiert werden konnte, ist aus Tab. 2 (S. 83) zu ersehen.

Die Löslichkeit des Proteins der relativ frostharten Bäume (III LTA- und III KTA-Nadeln vom 21.11. mit einer Kälteresistenz von -15° bzw. -23°) blieb sowohl bei den nicht eingefrorenen wie auch bei den eingefrorenen Nadeln bei jeder Denaturierungstemperatur praktisch vollständig erhalten. Der Gehalt an boratlöslichem Protein-N dieser Nadeln war auf dem gleichen, hohen Stand vor und nach Einfrierung der Nadeln.

		Datum	Resi- stenz	% lösl. Protein nach 16 h Denaturierung bei			
				4°	-10°	-20°	-30°
60-jähr Baum	a	26.10.77	- 5°C	90	96	82	83
	b	26.10.	- 5°C	96	-	96	-
III LTA	a	30.10.	0°C	88	-	28	-
	b	30.10.	0°C	97	-	97	-
	a	21.11.	-15°C	94	92	90	99
	b	21.11.	-15°C	100	100	100	100
III KTA	a	30.10.	- 8°C	94	-	71	-
	b	30.10.	- 8°C	98	-	98	-
	a	21.11.	-21°C	100	97	93	93
	b	21.11.	-21°C	100	100	100	100
II	a	21.11.	0°C	92	93	67	78
LTI	b	21.11.	0°C	99	93	99	96

Tab. 5. Übersicht über das Ausmaß der Kältedenaturierung durch verschiedene niedere Temperaturen des ausgefällten boratlöslichen Proteins, das durch Extraktion vor (a) bzw. nach (b) Einfrieren der Nadeln von Bäumen verschiedener Kälteresistenz gewonnen wurde.

Bei den weniger frostharten Nadeln war die Löslichkeit des aus den nicht eingefrorenen Nadeln gewonnenen ausgefällten Proteins nach der Lagerung bei Denaturierungstemperaturen deutlich niedriger als nach Lagerung bei 4°C, was bei den vor der Extraktion eingefrorenen Nadeln nicht der Fall war. Dementsprechend war der N_{BLP}-Gehalt der vor der Extraktion nicht eingefrorenen Nadeln wesentlich höher als der der eingefrorenen Nadeln. Diese Ergebnisse sprechen dafür, daß die gesamte boratlösliche Proteinfraction gehärteter Nadeln kälteunempfindlich ist. Bei nicht gehärteten

Nadeln besteht sie dagegen aus zwei Komponenten, von denen die eine kältebeständig, die andere aber kälte-denaturierbar ist und irreversibel ausfällt. Demnach scheint die bessere Extrahierbarkeit des boratlöslichen Proteins aus eingefrorenen Nadeln frostresistenter Bäume tatsächlich auf einer verbesserten Kältestabilität zu beruhen (vgl. 3.2.1., S. 30).

Die Untersuchung der boratlöslichen Proteine isolierter Chloroplasten (vgl. 3.3.3., S. 85) nach der obigen Arbeitsweise zeigte, daß die Löslichkeitsverhältnisse dieser Organellenproteine nach Kältebehandlung die der allgemeinen Blattproteine nicht widerspiegeln. Die ausgefällten boratlöslichen Proteine aus Chloroplasten, die von frisch geernteten nicht eingefrorenen Nadeln des nicht gehärteten 60jährigen Baumes isoliert worden waren, waren, sowohl nach Lagerung bei 4°C als auch bei -20°C nur zu 30-40 % in Boratpuffer wieder lösbar. Die Verhältnisse waren ähnlich bei den ausgefällten Proteinen aus Chloroplasten der parallel untersuchten, bei -20°C eingefrorenen Nadeln des gleichen Baumes. Auch das Einfrieren der isolierten Chloroplasten vor ihrer Extraktion mit Boratpuffer änderte nichts an der geringen Löslichkeit der gefällten Chloroplastenproteine nach Lagerung bei 4°C oder -20°C. Diese Ergebnisse stimmen auch überein mit der gleich guten Extrahierbarkeit des boratlöslichen Proteins aus den gleichen isolierten Chloroplasten, ungeachtet ob die Nadeln oder Chloroplasten eingefroren worden waren oder nicht (Tab. 4, S. 87; Werte für den 27.10.). Die boratlöslichen Chloroplastenproteine auch der frostepfindlichen Nadeln zeigen somit keine Kältestabilität, und die relativ geringe Löslichkeit des gefällten Proteins scheint eine Denaturierung bei der Fällung ohne Beteiligung von Kälte zu bedeuten.

Um einen ersten Anhaltspunkt für eine eventuell unterschiedliche Zusammensetzung der kälteempfindlichen und unempfindlichen Proteinfractionen zu erhalten, wurden in zwei Fällen Gesamthydrolysate von solchen Proteinen auf

ihre Aminosäurezusammensetzung untersucht. Das ausgefällte boratlösliche Protein aus frostempfindlichen Nadeln des 60jährigen Baumes (Kälteresistenz -5°C am 26.10.1977) wurde über Nacht bei -20°C eingefroren und anschließend mit Boratpuffer inkubiert wie oben beschrieben. Der lösliche und der unlösliche Anteil wurden getrocknet und 16 Std. bei 100°C mit 6 N HCl hydrolysiert. Die Hydrolysate wurden getrocknet und in wenig destilliertem Wasser aufgenommen. Von den Lösungen wurden 0,5 mg Protein entsprechende aliquote Teile mit einem Beckman 120C Aminosäureanalysator untersucht. Wie Tab. 6 (S. 92) zeigt, bestand zwischen dem kälte-denaturierten und dem weiterhin löslichen Protein lediglich ein Unterschied im Lysin/Arginin-Verhältnis. Während im Vergleich zu den sauren Aminosäuren das Lysin bei der denaturierten Probe um 25 % niedriger lag, war Arginin dagegen um 5 % erhöht. Eine Wiederholung des Versuchs wenig später mit Nadeln des gleichen Baumes bestätigte die Tendenz dieser Unterschiede. In diesem Zusammenhang ist es bemerkenswert, daß der Vergleich hitzestabiler mit hitzelabiler Laktatdehydrogenase von Bakterien als einzigen signifikanten Unterschied einen allerdings noch dramatischeren Unterschied im Lysin/Arginin-Verhältnis zeigt, wobei allerdings der höhere Arginingehalt auf der Seite der hitzestabilen Enzyms liegt (FRANK et al. 1976).

Aminosäurezusammensetzung des kältestabilen (a) und des kältedenaturierten (b) Proteins				
Amino Acid	µM/mg		Mol.-Verh. Glu = 1	
	a	b	a	b
Lysine	0,088	0,066	0,38	0,26
Arginine	0,088	0,102	0,38	0,41
Histidine	0,036	0,032	0,16	0,13
Aspartic Acid	0,198	0,212	0,86	0,84
Threonine	0,104	0,115	0,45	0,45
Serine	0,130	0,134	0,56	0,53
Glutamic Acid	0,231	0,251	1,00	1,00
Glycine	0,191	0,208	0,88	0,83
Alanine	0,187	0,202	0,81	0,81
Valine	0,100	0,111	0,43	0,44
Methionine	0,041	0,047	0,18	0,19
Isoleucine	0,070	0,079	0,30	0,31
Leucine	0,172	0,189	0,74	0,75
Tyrosine	0,055	0,058	0,24	0,23
Phenylalanine	0,074	0,034	0,32	0,33
Cystine	o	o	o	o
o = nicht bestimmt				

Tab. 6. Vergleich der Aminosäurezusammensetzung des bei -20°C irreversibel denaturierten (b) und des weiterhin löslich bleibenden Proteins (a) der borat-löslichen Fraktion aus ungehärteten Nadeln (Kälteresistenz -5°C) der 60jährigen Fichte vom 26.10.1977.

Einfluss von Kalte auf die boratlösliche Proteinfraction der Gewebe anderer Arten

Um zu prüfen, ob eine wie bei Fichtennadeln festgestellte Korrelation zwischen der Kältestabilität von löslichen Proteinen und der Frosthärtung auch bei anderen Arten vorkommt, wurden die Blätter bzw. die Rinde von mehreren unter Freilandbedingungen überwinternden frostharten Pflanzen untersucht. Zusätzlich wurden Blätter von einigen im Gewächshaus stehenden relativ bzw. gänzlich frostepfindlichen Arten geprüft. Das Untersuchungsmaterial wurde dabei in der gleichen Weise wie bei der für die Fichtennadeln angewendeten Prozedur aufgearbeitet: Es wurde einerseits unmittelbar nach der Ernte und andererseits nach vorherigem Einfrieren bei -20°C mit Boratpuffer zerrieben und nach Einfrieren des Homogenats wie üblich mit Boratpuffer extrahiert.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tab. 7 (S. 94) zusammengefasst. Während im Winter bei gut entwickelter Kälteresistenz der N_{BLP} der Rinde bzw. der Blätter der frostharten Arten in allen Fällen aus dem frisch geernteten und dem vor der Extraktion eingefrorenen Material gleich gut oder fast gleich gut extrahierbar war, konnte dieser im Fruhherbst bei den Koniferen in wesentlich größeren Mengen aus den frisch geernteten Nadeln gewonnen werden. Bei den übrigen frostharten Arten waren dagegen die Verhältnisse zu beiden Prüfzeiten sehr ähnlich. Das Bild bei den verwöhnten frostepfindlichen Arten war auch nicht einheitlich, da der Blatt- N_{BLP} des Spinats besser aus den nicht eingefrorenen Blättern extrahierbar war, bei Geranium und Elefantengras dagegen nicht. Die bei Fichtennadeln festgestellte offensbare Kältestabilisierung eines Anteils der löslichen Proteine im Zuge der Frosthärtung ist somit kein allgemeines Phänomen, obwohl sie bei den Koniferen doch weiter verbreitet zu sein scheint. Daß das lösliche Protein eines frostepfindlichen Organismus aus einer kaltestabilen und einer kälteunstablen Komponente besteht, ist offensichtlich auch keine allge-

Untersuchungsmaterial Pflanze	Gewebe	Extrahierbarer N _{BLP} in %			
		September		Februar	
		a	b	a	b
<u>frosthart</u>					
Fichte (<i>Picea abies</i>)	Blatt	53	32	55	51
Kiefer (<i>Pinus nigra</i>)	Blatt	36	21	56	57
Tanne (<i>Abies nordmanniana</i>)	Blatt	53	29	52	53
Douglasie (<i>Pseudotsuga taxifolia</i>)	Blatt	59	30	58	55
Eibe (<i>Taxus baccata</i>)	Blatt	45	41	45	41
Lebensbaum (<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>)	Blatt	43	49	47	45
Eiche (<i>Quercus borealis</i>)	Rinde	38	40	49	51
Hartriegel (<i>Cornus alba</i>)	Rinde	47	48	50	55
<u>frostempfindlich</u>					
Spinat (<i>Spinacea oleracea</i>)	Blatt			36	28
Geranium (<i>Geranium spec.</i>)	Blatt			23	28
Elephantengras (<i>Pinnesetum purpureum</i>)	Blatt			31	32

Tab. 7. Einfluß des Einfrierens des Blatt- bzw. Rindengewebes verschiedener Pflanzen auf die Extrahierbarkeit der boratlöslichen Proteinfraction in Abhängigkeit von der Jahreszeit. Kälteresistenz der Fichtennadeln: Im September -5° , im Februar -40° . Behandlung des Materials: a = sofort nach der Ernte zerrieben, b = vor dem Zerreiben bei -20°C eingefroren

DISKUSSION

Die hier beschriebenen Versuche haben zunächst gezeigt, daß die Kälteresistenz bei Fichtennadeln nicht nur durch niedrige Temperaturen, sondern auch durch langandauernden Kurztag allein induziert werden kann, was bisher bereits für die Rinde einiger anderer frostharten Arten gezeigt worden ist (IRVING und LANPHEAR 1967, HOWELL und WEISER 1970, FUCHIGAMI et al. 1971). Bei kürzerer Einwirkung von Kurztag wurde sowohl bei der Fichte (siehe auch DORMLING 1971) als auch bei anderen Versuchspflanzen (z.B. UMAERUS 1963, ZEHNDER und LANPHEAR 1966, VAN HUUSTEE et al. 1967) zumindest eine Förderung der durch Kälte ausgelöster Härtung erreicht. Gleichzeitiger Beginn von Kurztagbehandlung und Kältung führte in manchen Versuchen bei der Fichte ebenfalls zur beschleunigten Härtung, während Langtag die Härtung verzögerte, gleichgültig, ob er vorher oder gleichzeitig gegeben wurde. Ähnliche antagonistische Wirkung von Kurz- und Langtag auf die gleichzeitige Härtung durch niedere Temperaturen wurde von KOHN und LEVITT (1966) bei Kohl beobachtet, während bei Efeu (STEPONKUS und LANPHEAR 1968) und Eibe (ZEHNDER und LANPHEAR 1966) keine unterschiedliche Wirkung verschiedener Photoperioden gefunden wurde. Bei Winterweizen wurde sogar eine fördernde Wirkung des Langtages beobachtet. Langtag wirkte der Ausbildung der Resistenz entgegen, vermag sie aber nicht zu verhindern. Entsprechend wirkte bei Verwöhnung Langtag förderlich auf die Enthärtung, Kurztag dagegen verzögernd ein.

Die eingangs gestellte Frage, ob die von verschiedenen Autoren, insbesondere von POMEROY et al. (1970) beschriebene Parallelität von Härtung und Zunahme der löslichen Proteinfraktion durch die gleichen Faktoren gesteuert wird und diese auch dann aufrecht erhalten bleibt, wenn eine unnatürliche Kombination der induzierenden Faktoren vorliegt, konnte zunächst eindeutig positiv beantwortet werden. Obwohl alle möglichen Kombinationen von Photoperiode

und Temperaturverhältnissen verwendet wurden, konnte in keinem Falle eine Entkoppelung der Hartung von der Zunahme des boratlöslichen Proteins bzw. der Enthärtung von der Abnahme dieser Fraktion beobachtet werden. Diese Feststellung spricht dafür, daß auch ein ursächlicher Zusammenhang zwischen den beiden Faktoren besteht. Im Vergleich dazu sind die weitgehend übereinstimmenden Beobachtungen hinsichtlich des gegenseitigen Verhaltens der Zucker (Raffinose) und der Kälteresistenz bei Fichtennadeln (C.DOVER und O.KANDLER, unveröffentlichte Ergebnisse) von Interesse. Dabei wurde eine Entkoppelung von Raffinoseanreicherung und Kälteresistenz nur in einem einzigen Fall erreicht, nämlich im Laufe einer künstlichen Enthärtung, bei der der Raffinosegehalt auf das der völligen Enthärtung entsprechende Niveau absank, zu einer Zeit, als noch eine erhebliche Resistenz von -20° bis -30°C vorlag. Die Raffinoseanreicherung kann somit nicht der alleinige Grund der Kälteresistenz sein. Die Veränderung der löslichen Proteinfraction erfolgte auch unter den meisten Bedingungen früher oder zumindest gleichzeitig, als die der Kälteresistenz, in keinem Fall später. Dies könnte dafür sprechen, daß diese Veränderung eine Voraussetzung für die Ausbildung der Resistenz ist.

POMEROY et al. nehmen an, daß sie mit der Boratextraktionsmethode eine tatsächliche Veränderung der Menge an löslichem Protein erfaßten und daß die im Verlauf der Härtung vermehrte lösliche Fraktion neu synthetisiert wird und gliedern diese Annahme in die von SIMINOVITCH et al. (1967 a) vertretene Vorstellung einer allgemeinen Vermehrung des Cytoplasmas im Zusammenhang mit der Frosthärtung (siehe auch SIMINOVITCH et al. 1967 b und SIMINOVITCH et al. 1968) ein. Es ergab sich jedoch bei den hier beschriebenen Versuchen, daß eine bis 50-60 %ige Zunahme des löslichen Proteins nur dann beobachtet werden kann, wenn die Nadeln entsprechend den Versuchsbedingungen von POMEROY et al. vor der Extraktion bei Temperaturen niedriger als -10°C

eingefroren wurden. Die Extraktion frisch geernteter Nadeln nach den sonst gleichen Methoden ergab dagegen eine fast konstante Menge an extrahierbarem Protein während des ganzen Jahres (Abb. 9, S. 35) und im wesentlichen ebenso unter allen experimentellen Bedingungen, die die Kälteresistenz stark veränderten.

Die von POMEROY et al. und auch zunächst in den vorliegenden Untersuchungen bei Verwendung eingefrorener Nadeln beobachtete Veränderung der löslichen Proteinfraction ist also nur scheinbar. Tatsächlich bleibt die Fraction annähernd gleich groß und verändert parallel zur Härtung und Enthärtung lediglich ihr Verhalten. Offensichtlich ist rund die Hälfte des löslichen Proteins in ungehärteten Nadeln kälte-labil und erleidet beim Einfrieren eine Kältedenaturierung, wodurch es zumindest für den Boratpuffer unlöslich wird, während in den gehärteten Nadeln keine Denaturierung erfolgt. Diese Kälte-labilität des Proteins könnte auch die Ursache der Frostempfindlichkeit der gesamten Nadeln sein, wobei offen bleibt, ob es sich vorwiegend um Membranprotein handelt oder um solches des Cytosols. Die wesentliche Frage zur weiteren Klärung des Mechanismus von Härtung und Enthärtung ist die nach der Natur dieser Veränderung.

Man könnte annehmen, daß das Protein durch Anreicherung von Schutzstoffen im Laufe der Härtung besser vor der denaturierenden Wirkung des Einfrierens geschützt wird und daher extrahierbar bleibt. Vor allem Zucker, die oft parallel zur Härtung in Pflanzengewebe-n angehäu-ft werden (siehe z.B. LEVITT 1956, PARKER 1963, auch SENSER et al. 1971, C.DOVER und O.Kandler - unveröffentliche Ergebnisse), wird vielfach eine Schutzfunktion zugeschrieben, z.B. im Sinne einer allgemeinen kolligativen Wirkung (vgl. LOVELOCK 1953), die auch mit der Aufrechterhaltung von Membranaktivitäten in Beziehung gebracht wird (HEBER und SANTARIUS 1964). Eine mit Härtung korrelierte Anreicherung von Zuckeralkoholen (SEYBOLD 1969), Aminosäuren

(BENKO 1969) und organischen Säuren (OECHSSLER 1968) könnte ebenso von Bedeutung sein, da auch diese Substanzen Frostschutz bedingen können (siehe RICHTER 1968, HEBER et al. 1971 bzw. SANTARIUS 1971). Sogar niedermolekulare Proteine wirken als Schutzstoffe (siehe z.B. HEBER und ERNST 1967, HEBER und KEMPLE 1970).

Eine alternative Hypothese besteht in der Annahme, daß ein Teil des Proteins in Richtung Kältestabilität modifiziert wird, bzw. daß die Neusynthese eines kältestabilen Proteins unter Abbau des kälte labilen Anteils stattfindet.

Für die letztere Vorstellung sprechen die Befunde von POMEROY et al. (1970), die bei der Rinde von Pinus resinosa gerade zur Zeit der Härtung einen besonders hohen Einbau von markiertem Leucin in die boratlösliche Proteinfraktion fanden (siehe auch SIMINOVITCH 1963). In den vorliegenden Versuchen mit Fichtennadeln ließ sich dieser Effekt nicht zeigen. Im Gegenteil, der Einbau von Leucin nahm unter Freilandbedingungen im Herbst drastisch ab und stieg erst wieder im Frühjahr an (Abb. 14, S. 47), wie man es aus dem allgemeinen Verhalten der Stoffwechselaktivität beim Wechsel zwischen warmer und kalter Jahreszeit erwartet. Entsprechende Reaktionen in Bezug auf die Temperaturverhältnisse wurden auch bei künstlich bedingter Enthärtung und Härtung bestätigt. Kältebedingte Härtung scheint somit nicht positiv, sondern eher negativ mit der Proteinsynthesekapazität korreliert zu sein.

Die Neusynthese eines so großen Anteils des Proteins während der Härtung kann daher für unwahrscheinlich gehalten werden. Als einen ersten Anhaltspunkt für die Entscheidung der Frage: Modifizierung des kälte labilen Proteins zu einer kältestabilen Form oder lediglich Verhinderung der Kältedenaturierung durch Frostschutzbedingungen bei unverändertem Protein, sind die Versuche zur Kältedenaturierung des ausgefällten extrahierten Proteins anzusehen.

Da auch das gefällte Protein beim Einfrieren in vitro nur dann zu einem erheblichen Teil boratunlöslich wurde, wenn es aus frostepfindlichen Nadeln extrahiert worden war, kann man vermuten, daß das Protein während der Härtung tatsächlich eine Modifizierung erfährt und nicht nur durch Frostschutzstoffe stabilisiert wird, denn diese sind ja durch die Extraktion verdünnt und durch die Fällung weitgehend entfernt worden.

Über die Natur einer möglichen Modifikation lassen sich noch keine begründeten Vermutungen äußern. Das Phänomen der Kälteelabilität von Proteinen ist allgemein bekannt (siehe z.B. BURKE et al. 1976, PARTMANN 1977). Es wird nach der Sulfhydryl-Disulfid-Theorie (LEVITT 1962) als Ursache für Frostschäden angenommen und spielt eine wichtige Rolle in allen neueren Vorstellungen hinsichtlich der Mechanismen der Frostschädigung (BURKE et al. 1976). Stabilität und Instabilität sind von vielen verschiedenen Bedingungen wie pH, Elektrolytkonzentration, Oxidation von Sulfhydrylgruppen, Proteinkonzentration und Wassergehalt abhängig (BURKE et al. 1976, PARTMANN 1977); Temperatur allein kann auch durchaus von Bedeutung sein (BRANDTS 1967, KLEINER 1978). Es ist ferner bekannt, daß schon geringe Unterschiede in der Struktur des Proteins die eine oder andere Eigenschaft bedingen können (KLEINER 1978).

Weitere Studien des Verhaltens des löslichen Proteins gehärteter und ungehärteter Pflanzen sind für eine Entscheidung nötig.

5. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Parallelität von Kälteresistenz und Veränderungen im Stickstoffhaushalt wurden bei Nadeln einer 60jährigen Fichte und jungen eingetopften Fichten (Sämlings- und Klonmaterial) untersucht, die verschiedenen natürlichen und künstlichen Kombinationen von Photoperiode und Temperatur unterworfen waren. Die Wachstumsbedingungen umfaßten:
 - a) die natürlichen klimatischen Verhältnisse für München;
 - b) konstante Langtag- und Kurztagbedingungen sowohl beim natürlichen Temperaturgang als auch bei einer Dauertemperatur von 20°C ;
 - c) Kältungs- und Verwöhnungsbedingungen in Klimakammern unter Langtag- und Kurztagbedingungen für Bäumchen, die an verschiedenen photoperiodischen Verhältnissen angepaßt waren.

Bestimmt wurden: Gesamtstickstoff (N_G) sowie alkohol- und boratlöslicher Stickstoff (N_{AL} und N_{BL} bzw. N_{BLP}) und der Einbau von Leucin in die Proteine der boratlöslichen Fraktion.

2. Der Jahresgang der Kälteresistenz unter normalen Außenbedingungen entsprach in etwa den aus der Literatur bekannten Befunden, wobei die Temperaturgrenze für das Überleben der Nadeln zwischen 0° und -40°C variierte. Kurztag unter natürlichen Temperaturverhältnissen bewirkte eine Beschleunigung der Härtung, Langtag dagegen eine Verzögerung. Unter konstanter Temperatur von 20°C hatten Kurztagbedingungen die Induktion einer mäßigen, aber beständigen Härtung zufolge. Kältung bewirkte stets eine Härtung, deren Ausmaß durch Lang- und Kurztag modifiziert wurde. Verwöhnung hatte immer eine Enthärtung zufolge, die meist rascher unter Langtagbedingungen als unter Kurztageinfluß verlief.
3. Weder die Änderungen des Gehaltes an Gesamtstickstoff (N_G) noch die des alkohollöslichen Stickstoffs (N_{AL}) zeigten eine Korrelation zur Kälteresistenz.

4. Der Gehalt an boratlöslichem Stickstoff (N_{BL}) bzw. Proteinstickstoff (N_{BLP}) der frisch geernteten Nadeln wies unter den verschiedenen Versuchsbedingungen nur relativ geringe Änderungen auf, die keine signifikante Korrelation mit der Kälteresistenz erkennen ließen. Wenn diese N-Fractionen jedoch aus eingefrorenen (-20°C) Nadeln extrahiert wurden, ergaben sich ausgeprägte, mit dem Resistenzzustand korrelierte Änderungen, nämlich eine Zunahme der Fraktion bei Härtung und eine Abnahme bei Enthärtung. Diese Beobachtung zeigt, daß - im Gegensatz zu der Schlußfolgerung anderer Autoren (z.B. POMEROY et al. 1970) - die Gesamtmenge des boratlöslichen Proteins bei Härtungs- bzw. Enthärtungsvorgängen relativ konstant bleibt, sich aber ihre Zusammensetzung ändert. Bei gut entwickelter Kälteresistenz ist die ganze lösliche Proteinfraction kältestabil, beim enthärteten Zustand dagegen bis zu rund 50 % durch Kälte denaturierbar und nicht mehr boratlöslich.
5. Die positive Korrelation zwischen dem Verhalten der boratlöslichen Proteinfraction und der Kälteresistenz (Punkt 4) blieb bei allen verwendeten, größtenteils künstlichen Kombinationen von Photoperiode und Temperatur aufrecht erhalten. Da in keinem Fall eine Entkoppelung der Härtung bzw. der Enthärtung von der Zunahme bzw. Abnahme des kältestabilen Anteils des boratlöslichen Proteins erhalten werden konnte, ist es wahrscheinlich, daß ein ursächlicher Zusammenhang zwischen den beiden Phänomenen besteht. Da die Veränderung der N_{BLP} -Fraktion immer früher oder zumindest gleichzeitig mit dem der Kälteresistenz erfolgte, könnte sie eine Voraussetzung für die Ausbildung der Resistenz sein.
6. Die Untersuchung des reversibel ausgefällten boratlöslichen Proteins, das aus frisch geernteten oder aus eingefrorenen (-20°C) frostharten oder frostepfindlichen Nadeln gewonnen wurde, ergab, daß die Löslichkeit des

Kältestabilen Proteins aus gehärteten Nadeln (Punkt 4) auch durch Einfrieren auf -20°C in vitro nicht beeinträchtigt wurde. Dagegen erwies sich die kältelabile Proteinfraktion aus ungehärteten Nadeln auch in vitro als offensichtlich durch die Kälte denaturierbar. Diese Beobachtung spricht dafür, daß das boratlösliche Protein frostharter Nadeln tatsächlich gegenüber -20°C kältestabil ist, während das der frostempfindlichen Nadeln zu etwa 50 % kältelabil ist. Es wird angenommen, daß im Laufe der Härtung eine Kältestabilisierung eines Teiles des boratlöslichen Proteins erfolgt.

7. Die Proteinsynthese, gemessen am Einbau radioaktiv markierten Leucins in die boratlösliche Proteinfraktion, zeigte keine positive, sondern eher eine negative Korrelation zur Kälteresistenz. Die Einbaurrate bei den im Freiland stehenden Bäume war im Sommer am höchsten und im Winter am niedrigsten, ohne eine besondere Steigerung zur Zeit der Resistenzinduktion aufzuweisen. Auch bei Kältung und Verwöhnungen in den Klimakammern war keine positive Korrelation zwischen den Änderungen der Einbaurrate und denen der Kälteresistenz bzw. der boratlöslichen Proteinfraktion ersichtlich. Es ist deshalb unwahrscheinlich, daß die beobachtete Kältestabilisierung von rund 50 % des boratlöslichen Proteins (Punkte 4 und 6) durch Neusynthese von kältestabilem Protein zustandekommt. Es ist vielmehr eine Modifizierung von schon vorhandenem Protein anzunehmen.
8. Ein Vergleich der Extrahierbarkeit des boratlöslichen Proteins aus überwinternden Geweben (Blatt bzw. Rinde) mehrerer anderer frostharter Holzgewächse zeigte, daß die Kältestabilisierung eines größeren Anteils der löslichen Proteinfraktion im Laufe der Härtung offenbar bei Koniferennadeln verbreitet ist, aber wohl nicht bei allen Pflanzen zutrifft.

LITERATURVERZEICHNIS

- ALDEN, J. and R.K. HERMANN. 1971. Aspects of the cold-hardiness mechanism in plants. Bot.Rev. 37, 37-142.
- BENKO, B. 1969. The content of some amino acids in young apple shoots in relation to frost resistance. Biol.Plant. (Praha) 11, 334-337.
- BRANDTS, J.F. 1967. In: A.H. Rose (Ed.): Thermobiology, pp. 25-27. Academic Press, London-New York.
- BRIGGS, D.R. and D. SIMINOVITCH. 1949. The chemistry of the living bark of the black locust tree in relation to frost hardiness. II Seasonal variations in the electrophoresis patterns of the water soluble proteins of the bark. Arch.Biochem. 25, 18-28.
- BURKE, M.J., L.V.GUSTA, H.A.QUAMME, C.J.WEISER and P.H.LI. 1976. Freezing and injury in plants. Ann.Rev. Plant Physiol. 27, 507-528.
- COLEMAN, E.A., R.J. BULA and A.L. DAVIS. 1966. Electrophoretic and immunological comparisons of soluble root proteins of Medicago sativa L. genotypes in the cold hardened and nonhardened condition. Plant Physiol. 41, 1681-1685.
- CRAKER, L.E., L.V.GUSTA and C.J. WEISER. 1969. Soluble proteins and cold hardiness of two woody species. Can.J.Plant Sci. 49, 279-286.
- DORMLING, I. 1971. Photo- und thermoperiodische Reaktionen bei Fichte, Kiefer und Gerste. 4. Symposium für industriellen Pflanzenbau, Wien 1971. Industrielle Pflanzenbau IV, 205-218.
- DROZDOV, S.N. and Z.F. SYCHEVA. 1965. Relationship of frost resistance of potatoe haulms with the level of nitrogen metabolism. Sov.Plant Physiol. 12, 274-279. (Trans. from Fiziol.Rast.).
- FRANK, G., H.-U. HABERSTICH, H.P. SCHAEER, J.D. TRATSCHIN and H. ZUBER. 1976. Thermophilic and mesophilic enzymes from B.caldotenus and B.stearothermophilus: Properties, relationships and fermentation. Symposium on enzymes

- and proteins from thermophilic microorganisms.
Proceedings of the International Symposium Zürich
1975, pp. 375-389. Birkhäuser-Verlag, Basel.
- HEBER, U., M. STAHMANN and D. SMITH. 1971.
Induction of cold acclimation in Cornus stolonifera
Michx. Plant Physiol. 47, 98-103.
- GERLOFF, E.D., M. STAHMANN and D. SMITH. 1967.
Soluble proteins in alfalfa roots as related to
cold hardiness. Plant Physiol. 42, 895-899.
- HEBER, U. 1959. Ursachen der Frostresistenz bei Winter-
weizen. III. Die Bedeutung von Protein für die Frost-
resistenz. Planta 54, 34-67.
- HEBER, U. und R. ERNST. 1967. A biochemical approach
to the problem of frost injury and frost hardiness.
In: E. Asahina (Ed.): Cellular injury and resistance
in freezing organisms, Bd. II, pp. 63-77. Hokkaido
University, Sapporo.
- HEBER, U. und M. KEMPLE. 1970. Proteine als Schutzstoffe
gegenüber dem Gefriertod der Zelle. Zeit.Naturforsch.
25, 834-842.
- HEBER, U. and K.A. SANTARIUS. 1964. Loss of adenosine
triphosphate synthesis by freezing and its relationship
to frost hardiness problems. Plant Physiol. 39, 712-719.
- HEBER, U. and K.A. SANTARIUS. 1973. Cell death by cold
and heat, and resistance to extreme temperatures.
Mechanisms of hardening and dehardening. In: H. Precht
et al. (Ed.): Temperature and Life, pp. 232-263.
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- HEBER, U., L. TYANKOVA and K.A. SANTARIUS. 1971.
Stabilisation and inactivation of biological membranes
during freezing in the presence of amino acids.
Biochim. et Biophys. Acta 241, 578-592.
- HOWELL, G.S. and C.J. WEISER. 1970. The environmental
control of cold acclimation in apple. Plant Physiol.
45, 390-394.
- IRVING, R.M. and F.O. LANPHEAR. 1968. Regulation of
cold hardiness in Acer negundo. Plant Physiol. 43,
9-13.

- JUNG, G.A., S.C. SHIH and C.D. SHELTON. 1967. Seasonal changes in soluble protein, nucleic acids and tissue pH related to cold hardiness of alfalfa. *Cryobiology* 4, 11-16.
- KAWASHIMA, N. and S.G. WILDMAN. 1970. Fraction I Protein. *Ann.Rev.Plant Physiol.* 21, 325-358.
- KLEINER, D. 1978. Leben unter extremen Bedingungen. *Nach.Chem.Tech.Lab.* 26, 198-203.
- KOHN, H. and J. LEVITT. 1966. Interrelations between photoperiod, frosthardeness and sulfhydryl groups in cabbage. *Plant Physiol.* 41, 792-796.
- LANGE, O.L. 1961. Die Hitzeresistenz einheimischer immer- und wintergrüner Pflanzen im Jahresverlauf. *Planta* 56, 666-683.
- LARCHER, W. 1973. Temperature resistance and survival. In: H. Precht et al. (Ed.): *Temperature and Life*, pp. 203-231. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- LARCHER, W., U. HEBER and K.A. SANTARIUS. 1973. Limiting temperatures for life functions. In: H. Precht et al. (Ed.): *Temperature and Life*, pp. 195-292. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- LARCHER, W. und Mitarbeiter. 1969. Anwendung und Zuverlässigkeit der Tetrazoliummethode zur Feststellung von Schäden in pflanzlichen Geweben. *Mikroskopie* 25, 207-218.
- LEVITT, J. 1956. *The hardiness of plants*. 278 pp. Academic Press, New York.
- LEVITT, J. 1962. A sulfhydryl-disulfide hypothesis of frost injury and resistance in plants. *J.Theoret.Biol.* 2, 355-391.
- LEVITT, J. 1966. Winter hardiness in plants. In: H.T. Meryman (Ed.): *Cryobiology*, pp. 495-563. Academic Press, New York.
- LI, P.H., C.J. WEISER and R.B. VAN HUYSTEE. 1965. Changes in metabolites of red-osier dogwood during cold acclimation. *Proc.Am.Soc.Hort.Sci.* 86, 723-730.

- LI, P.H., C.J. WEISER and R.B. VAN HUUSTEE. 1966. The relation of cold resistance to the status of phosphorous and certain metabolites in red-osier dogwood (Cornus stolonifera Michx.). Plant and Cell Physiol. 7, 475-484.
- LOVELOCK, J.E. 1953. The mechanism of the protective action of glycerol against haemolysis by freezing and thawing. Biochim. et Biophys. Acta 11, 28-36.
- MAZUR, P. 1969. Freezing injury in plants. Ann.Rev.Plant Physiol. 20, 419-448.
- MILLER, L. and J.A. HOUGHTON. 1945. The micro-Kjeldahl determination of the nitrogen content of amino acids and proteins. J.Biol.Chem. 159, 373 ff.
- OECHSSLER, G. 1968. Jahreszeitliche Schwankungen des Gehaltes an organischen Säuren in den Nadeln von Pseudotsuga menziesii (Mirb.) Franco, Picea abies (L.) H. Karten und Larix decidua Mill. Zeit.Pflanzenphysiol. 59, 213-225.
- OLIEN, C.R. 1967. Freezing stresses and survival. Ann. Rev.Plant Physiol. 18, 387-408.
- PARKER, J. 1959. Seasonal changes in white pine leaves: A comparison of cold resistance and free sugar fluctuations. Bot.Gaz. 121, 46-50.
- PARKER, J. 1961. Seasonal changes in cold resistance of some northeastern woody evergreens. J.Forest. 59, 108-111.
- PARKER, J. 1962. Relationships among cold hardiness, water-soluble protein, anthocyanins and free sugars in Hedera helix L. Plant Physiol. 37, 809-813.
- PARKER, J. 1963. Cold resistance in woody plants. Bot. Rev. 29, 123-201.
- PARTMANN, W. 1977. Some aspects of protein changes in frozen foods. Zeit.Ernährungswiss. 16, 167-175.
- PAULSEN, G.M. 1968. Effect of photoperiod and temperature on cold hardening in winter wheat (Triticum aestivum). Crop Sci. 4, 204-206.
- PISEK, A. und W. LARCHER. 1955. Zusammenhang zwischen Austrocknungsresistenz und Frosthärte bei Immergrünen. Protoplasma 44, 30-46.

- PISEK, A. und R. SCHIESSL. 1947. Die Temperaturbeeinflußbarkeit der Frosthärte von Nadelhölzern und Zwergsträuchern an der alpinen Waldgrenze. Ber. Nat.-med.Verein, Innsbruck 47, 33-52.
- POMEROY, M.K., D. SIMINOVITCH and F. WIGHTMAN. 1970. Seasonal biochemical changes in the living bark and needles of red pine (Pinus resinosa) in relation to adaptation to freezing. Can.J.Bot. 48, 953-967.
- RICHTER, H. 1968. Die Gefrierresistenz glyzerinbehandelter Campanula-Zellen. Protoplasma 66, 63-78.
- SANTARIUS, K.A. 1971. The effect of freezing on thylakoid membranes in the presence of organic acids. Plant Physiol. 48, 156-162.
- SCHEUMANN, W. und S. BÖRTITZ. 1965. Studien zur Physiologie der Frosthärtung bei Koniferen. 1. Mitteilung. Die Rolle des Lichtes bei der Frosthärtung und Verwöhnung. Biol.Zentralbl. 84, 489-500.
- SENSER, M. and E. BECK. 1977. On the mechanisms of frost injury and frost hardening of spruce chloroplasts. Planta 137, 195-201.
- SENSER, M. and E. BECK. 1978. The photochemical activities of isolated spruce chloroplasts as influenced by frost sensitivity and frost resistance. Photosynthetica 12, Heft 2 (in press).
- SENSER, M., P. DITTRICH, O. KANDLER, A. THANBICHLER und B. KUHN. 1971. Isotopenstudien über den Einfluß der Jahreszeit auf den Oligosaccharidenumsatz bei Coniferen. Ber.Dtsch.Bot.Ges. 84, 445-455.
- SENSER, M., F. SCHÖTZ and E. BECK. 1975. Seasonal changes in structure and function of spruce chloroplasts. Planta 126, 1-10.
- SEYBOLD, S. 1969. Zum jahres- und tagesperiodischen Verhalten von Zuckeralkoholen in vegetativen Pflanzen teilen. Flora A 160, 561-575.
- SIMINOVITCH, D. 1963. Evidence from increase in ribonucleic acid and protein synthesis for increase in protoplasm during the frost hardening of black locust bark cells. Can.J.Bot. 41, 1301-1308.

- SIMINOVITCH, D. and D.R. BRIGGS. 1949. Studies on the chemistry of the living bark of the black locust tree in relation to frost hardiness. I. Seasonal variations in protein content. Arch.Biochem. 23, 8-17.
- SIMINOVITCH, D. and D.R. BRIGGS. 1953. The chemistry of the living bark of the black locust tree in relation to frost hardiness. IV. Effects of ringing on translocation, protein synthesis, and the development of hardiness. Plant Physiol. 28, 177-200.
- SIMINOVITCH, D. and A.P.J. CHATER. 1958. Biochemical processes in the living bark of the black locust tree in relation to frost hardiness and the seasonal cycle. In: K.V. THIMANN (Ed.): The physiology of forest trees, pp. 219-250. Ronald Press, New York.
- SIMINOVITCH, D., F. GFELLER and B. RHEAUME. 1967 a. The multiple character of the biochemical mechanism of freezing resistance of plant cells. In: E. Asahina (Ed.): Cellular injury and resistance in freezing organisms. Vol. II. Bunyeido Printing Co., Sapporo. (Biol.Abstr. 49: 37230. 1968).
- SIMINOVITCH, D., B. RHEAUME, K. POMEROY and M. LEPAGE. 1968. Phospholipid, protein, and nucleic acid increases in protoplasm and membrane structures associated with development of extreme freezing resistance in black locust tree cells. Cryobiology 5, 202-225.
- SIMINOVITCH, D., B. RHEAUME and R. SACHAR. 1967 b. Seasonal rhythmic increase in protoplasm and metabolic capacity in tree cells during adaptation to freezing. In: C.L. Prosser (Ed.): Molecular mechanisms of temperature adaptation. Horne-Shafer Co., Baltimore.
- STEPONKUS, P.L. and F.O. LANPHEAR. 1968. The role of light in cold acclimation of Hedera helix L. var. Thorndale. Plant Physiol. 43, 151-156.
- STRAUCH, L. 1965. Ultramikromethode zur Bestimmung des Stickstoffs in biologischem Material. Zeit.Klin.Chem., Jrg. 2, 165-167.
- TUMANOV, I.I., G.V. KUZINA and L.D. KARNIKOVA. 1968. The influence of photoperiods on the frost resistance of apricots and black current. Sov.Plant Physiol. 12, 580-594. (Trans.from Fiziol.Rast.).

- UMAERUS, M. 1963. The influence of photoperiod treatment on the overwintering of red clover. *Zeit.Pflanzenzüch.* 50, 167-193.
- VAN DEN DRIESSCHE, R. 1969. Measurement of frost hardiness in two-year-old Douglas fir seedlings. *Can.J.Plant Sci.* 49, 159-172.
- VAN HUYSTEE, R.B., C.J. WEISER and P.H. LI. 1967. Cold acclimation in Cornus stolonifera under natural and controlled photoperiod and temperature. *Bot.Gaz.* 128, 200-205.
- VASIL'YEV, I.M., L.A. LEBEDEVA and F.M. RAFIKOVA. 1964. Some interrelations between water, carbohydrates, and nitrogen metabolism in winter wheat in relation to the problem of frost resistance. *Sov.Plant Physiol.* 11, 761-767. (Trans.from *Fiziol.Rast.*).
- VOLGER, H.G. and U. HEBER. 1975. Cryoprotective leaf proteins. *Biochim. et Biophys.Acta* 412, 335-349.
- WEISER, C.J. 1970. Cold resistance and injury in woody plants. *Science* 169, 1269-1278.
- ZEHNDRER, L.R. and F.O. LANPHEAR. 1966. The influence of temperature and light on the cold hardiness of Taxus cuspidata. *Proc.Am.Soc.Hort.Sci.* 89, 706-713.

7.

APPENDIX : Darstellung der Ergebnisse der einzelnen
Bäume der Kältungs- und Verwöhnungsversuche.

- (a) Kältung der Bäume der Serien I und II: (Abb. 24-29, S. 111-116; siehe auch Abb. 18 und 19, S. 62 bzw. 63).

N-Gehalt und Kälteresistenz der 1975 gebildeten Nadeln von Freilandbäumen der Serien I und II, die am 11.9.1975 in Klimakammer überführt und dort bis zum 14.11.1975 gekältet wurden. Zur Zeichenerklärung: $15^0/5^0$ bzw. $10^0/0^0$: Tag-/Nachttemperaturen bei der Kältung.

- (b) Verwöhnung der Bäume der Serien I und II: (Abb. 30-33, S. 117-120; siehe auch Abb. 20 und 21, S. 68-69).

N-Gehalt und Kälteresistenz der 1975 gebildeten Nadeln von Freilandbäumen der Serien I und II, die am 24.11.1975 in LTI- bzw. KTI-Bedingungen überführt und dort bis zum 5.3.1976 bei 20^0C verwöhnt wurden.

- (c) Verwöhnung und anschließende Kältung der Bäume der Serie III: (Abb. 34-36, S. 121-123; siehe auch Abb. 22 und 23, S. 75 bzw. 76).

N-Gehalt, Kälteresistenz und Einbaurate von Leucin in die boratlösliche Proteinfraction der 1976 gebildeten Nadeln von Freilandbäumen der Serie III, die von 6.12.1976 bis 1.2.1977 in LTI- bzw. KTI-Bedingungen verwöhnt und anschließend bei gleichbleibender Photoperiode in Klimakammern bis zum 4.4.1977 gekältet wurden. Zeichenerklärung:

●—● : N_G bzw. Kälteresistenz bzw. Leucineinbaurate,
+.....+ und x---x: N_{BL} bzw. N_{BLP} der frisch geernteten Naden, o—o und Δ — Δ : N_{BL} bzw. N_{BLP} der eingefrorenen Nadeln, $\uparrow$: Zeitpunkt des Austriebs,
 $15^0/5^0$ bzw. $10^0/0^0$: Tag-/Nachttemperaturen bei der Kältung.

KÄLTUNG IN LT-SCHWACHLICHT (SERIEN I UND II)

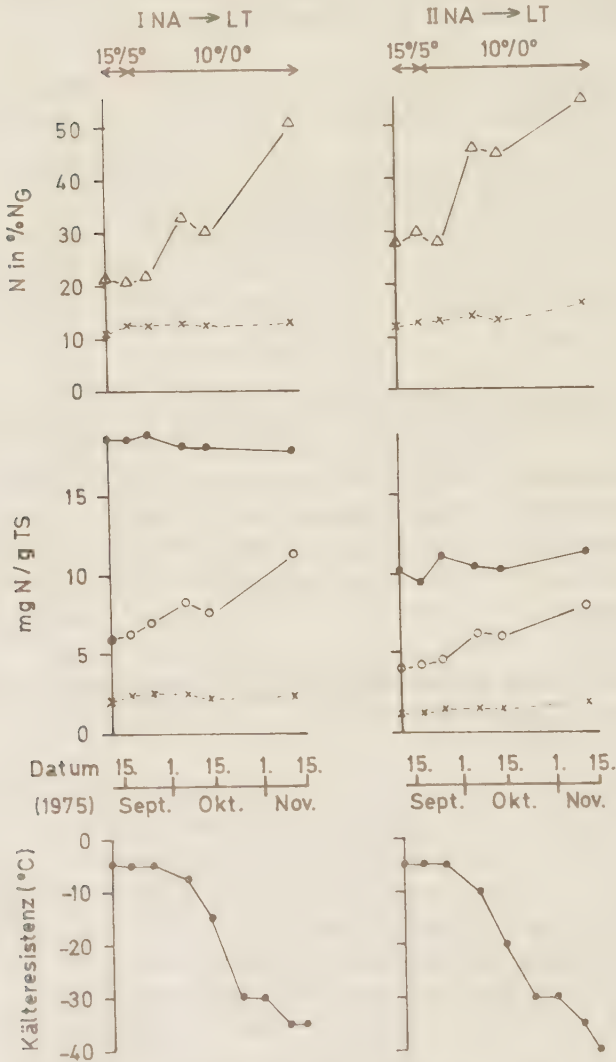


Abb. 24. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln von NA-Freilandbäumen der Serien I und II bei Kältung im Langtag unter Schwachlichtverhältnissen, von 11.9. bis 14.11.1975. ●—● : N_G bzw. Kälteresistenz, x---x : N_{AL}, o—o und Δ—Δ : N_{BL} bzw. N_{BLP} der eingefrorenen Nadeln.

KÄLTUNG IN KT-SCHWACHLICHT (SERIEN I UND II)

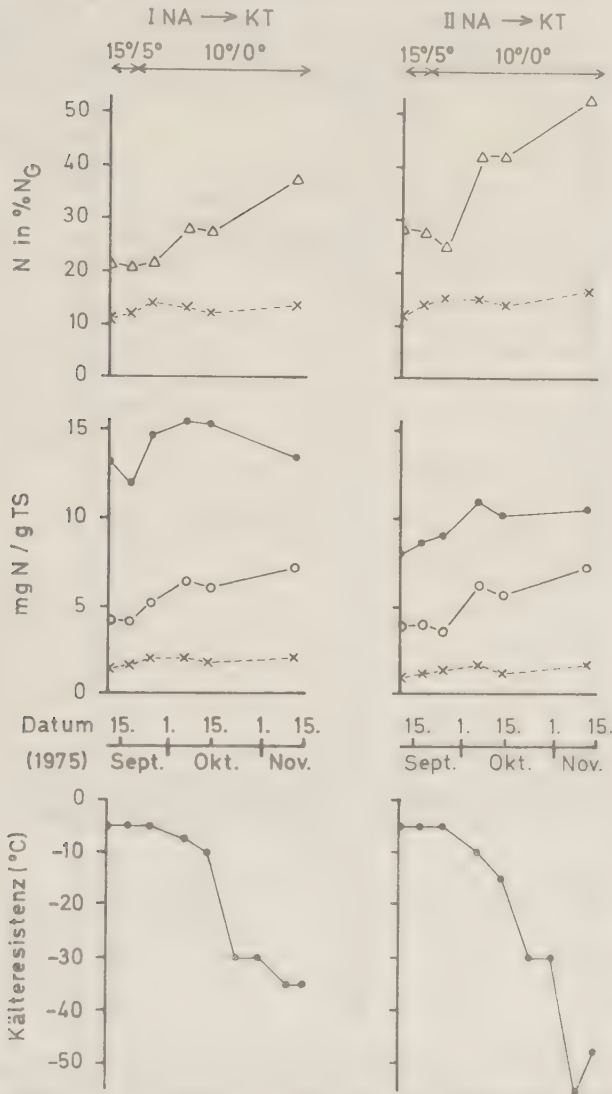


Abb. 25. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln von NA-Freilandbäumen der Serien I und II bei Kältung im Kurztag unter Schwachlichtverhältnissen, von 11.9. bis 14.11.1975. ●—● : N_G bzw. Kälteresistenz, x---x : N_{AL} , ○—○ und △—△ : N_{BL} bzw. N_{BLP} der eingefrorenen Nadeln.

KÄLTUNG IM LT-STARKLICHT (SERIE I)

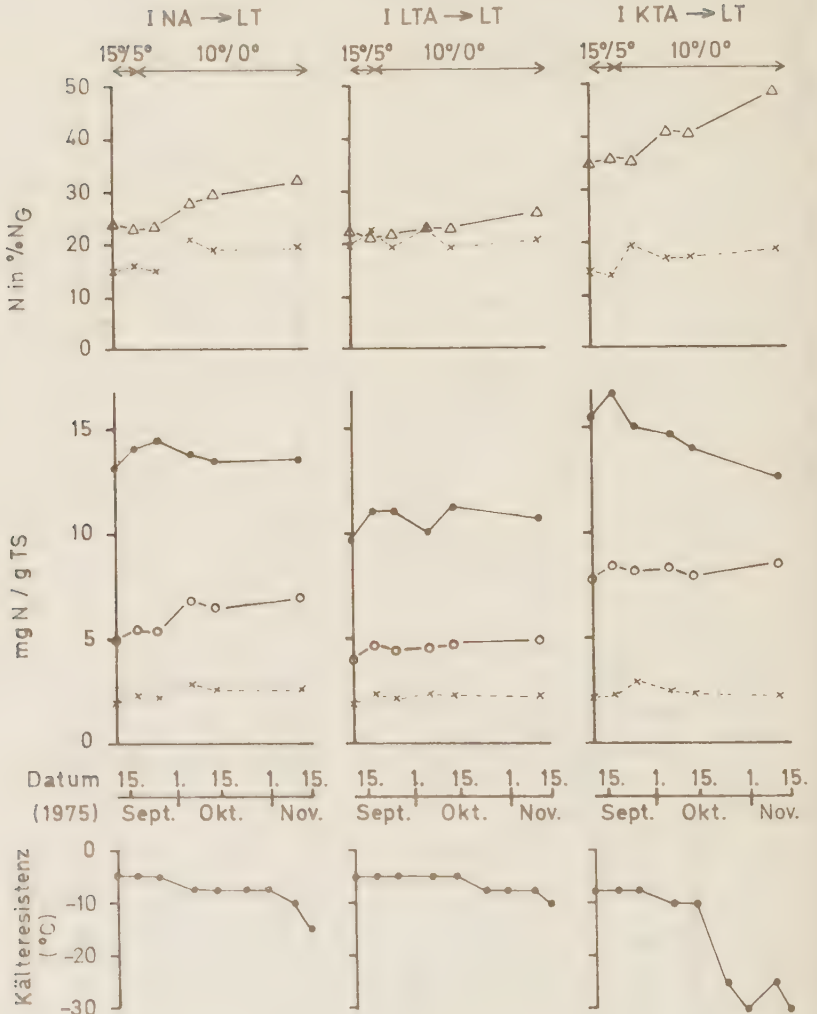


Abb. 26. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln von Freilandbäumen der Serie I bei Kältung im Langtag unter Starklichtverhältnissen, von 11.9. bis 14.11.1975.

●—● : N_G bzw. Kälteresistenz, x---x : N_{AL} , o—o und Δ—Δ : N_{BL} bzw. N_{BLP} der eingefrorenen Nadeln.

KÄLTUNG IN LT-STARKLICHT (SERIE II)

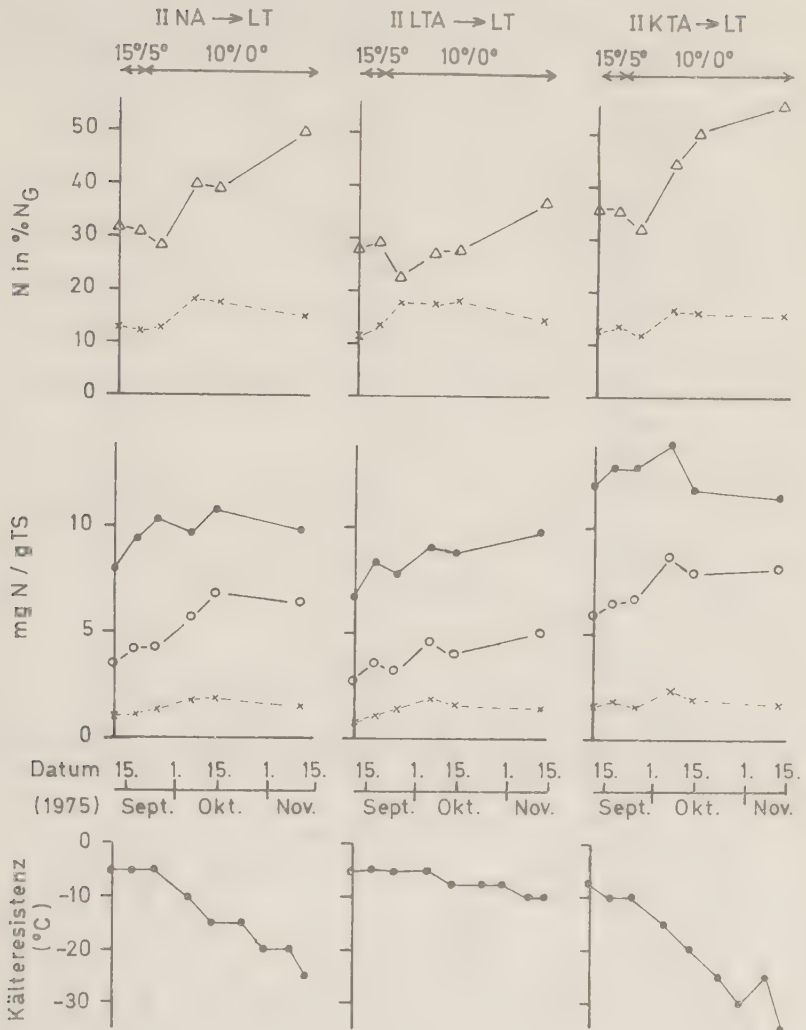


Abb. 27. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln von Freilandbäumen der Serie II bei Kältung im Langtag unter Starklichtverhältnissen, von 11.9. bis 14.11.1975.

●—● : N_G bzw. Kälteresistenz, x---x : N_{AL} , ○—○ und Δ—Δ : N_{BL} bzw. N_{BLP} der eingefrorenen Nadeln.

KÄLTUNG IN KT-STARKLICHT (SERIE I)

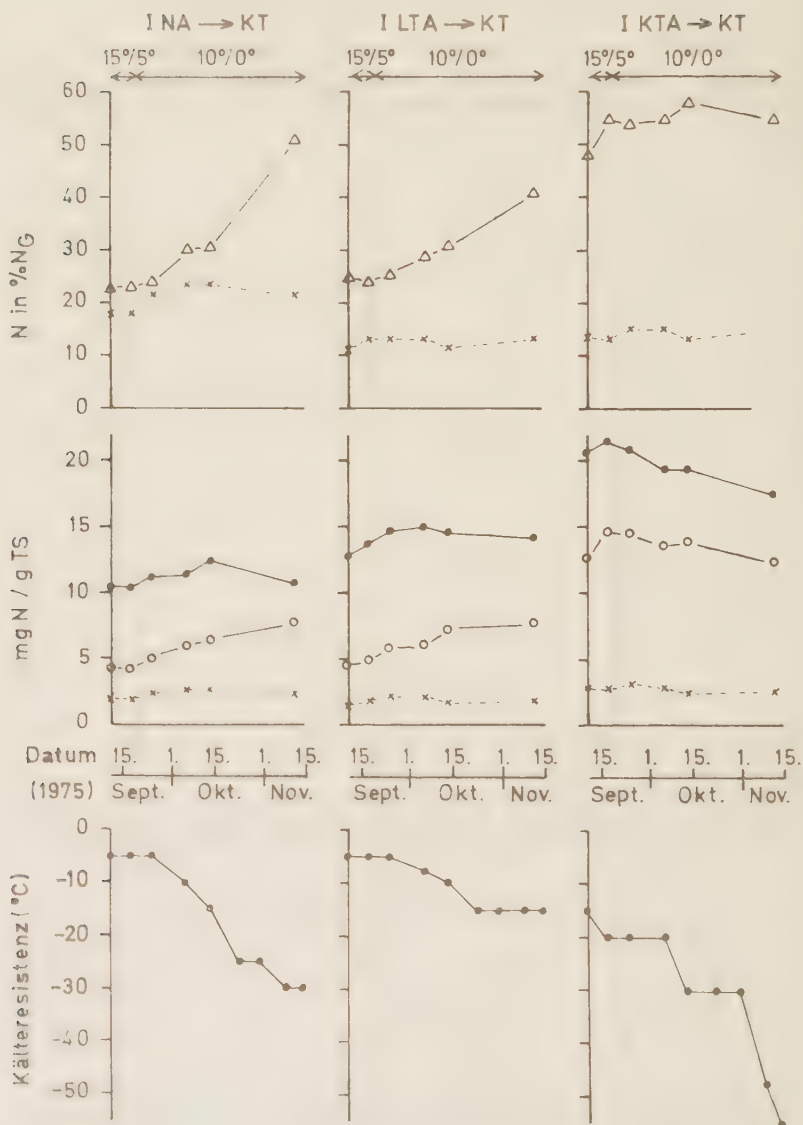


Abb. 28. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln von Freilandbäumen der Serie I bei Kältung im Kurztag unter Starklichtverhältnissen, von 11.9. bis 14.11.1975. Zeichenerklärung: Wie bei Abb. 24-27 (S. 111-114).

KÄLTUNG IN KT-STARKLICHT (SERIE II)

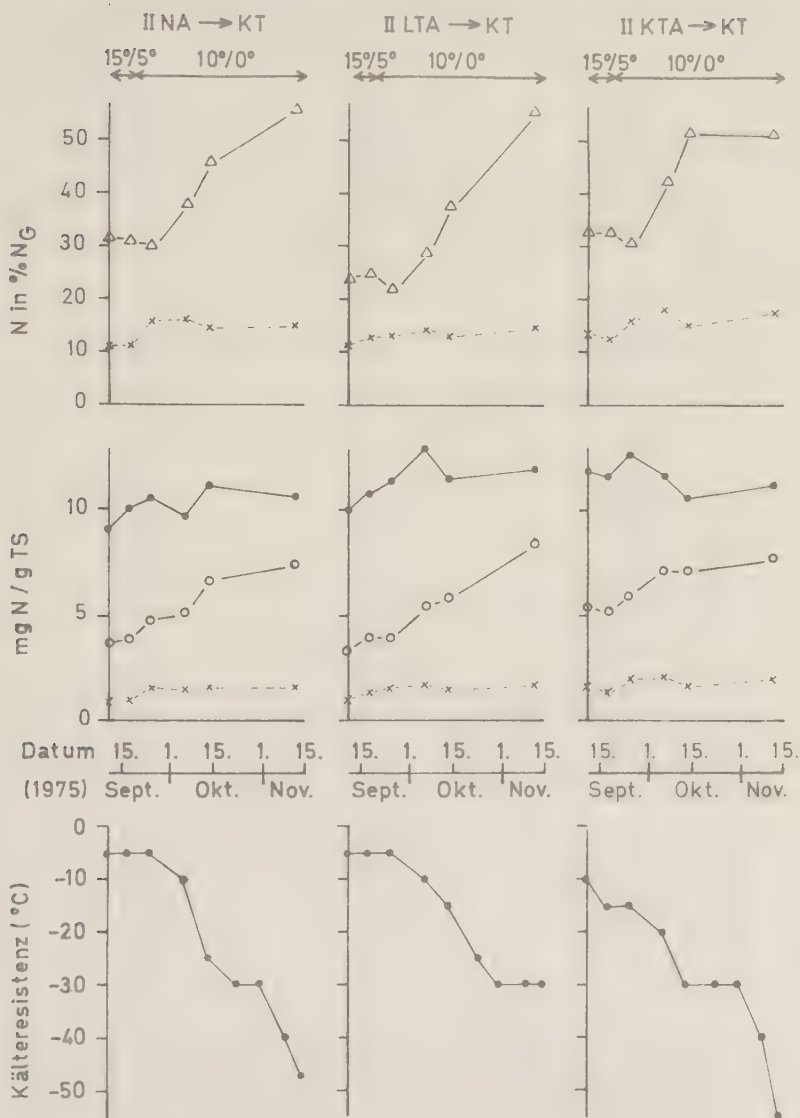


Abb. 29. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln von Freilandbäumen der Serie II bei Kältung im Kurztag unter Starklichtverhältnissen, von 11.9. bis 14.11.1975. Zeichenerklärung: Wie bei Abb. 24-27 (S. 111-114).

VERWÖHNUNG IN LT (SERIE I)

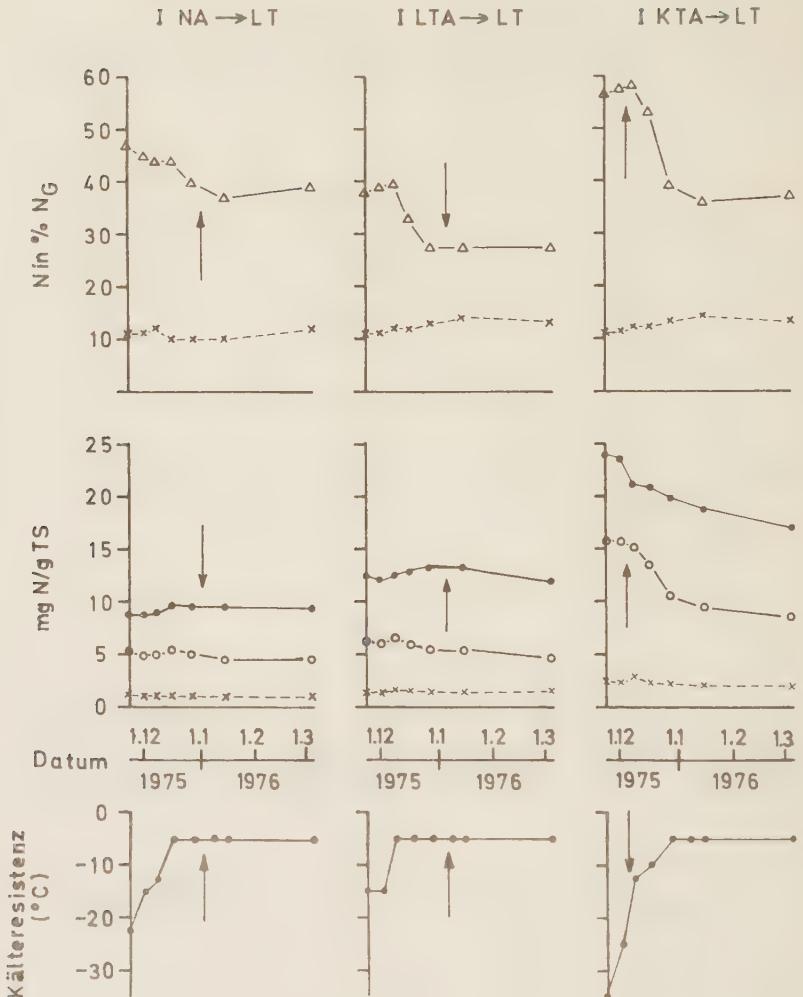


Abb. 30. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln von Freilandbäumen der Serie I bei Verwöhnung im Langtag, von 24.11.1975 bis 5.3.1976. ●—● : N_G bzw. Kälteresistenz, x---x : N_{AL} , o—o und Δ—Δ : N_{BL} bzw. N_{BLP} der eingefrorenen Nadeln.

↑ : Zeitpunkt des Austriebs.

VERWÖHNUNG IN LT (SERIE II)

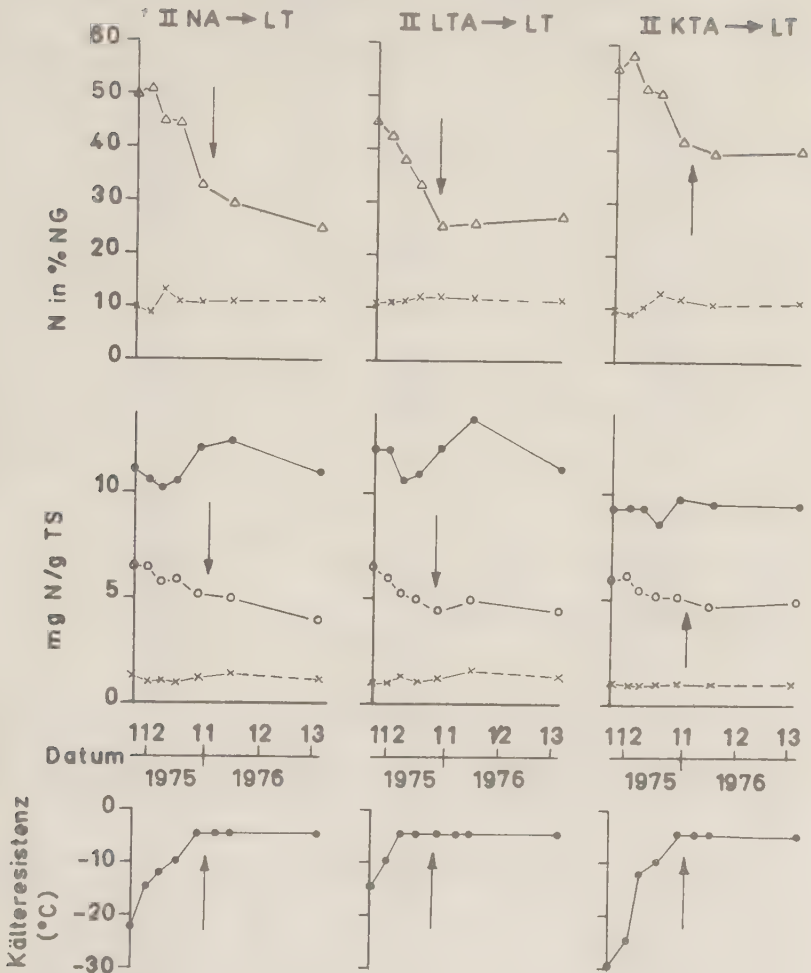


Abb. 31. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln von Freilandbäumen der Serie II bei Verwöhnung im Langtag, von 24.11.1975 bis 5.3.1976. ●—● : N_G bzw. Kälteresistenz, x---x : N_{AL} , o—o und Δ—Δ : N_{BL} bzw. N_{BLP} der eingefrorenen Nadeln.

↑ : Zeitpunkt des Austriebs.

VERWÖHNUNG IN KT (SERIE I)

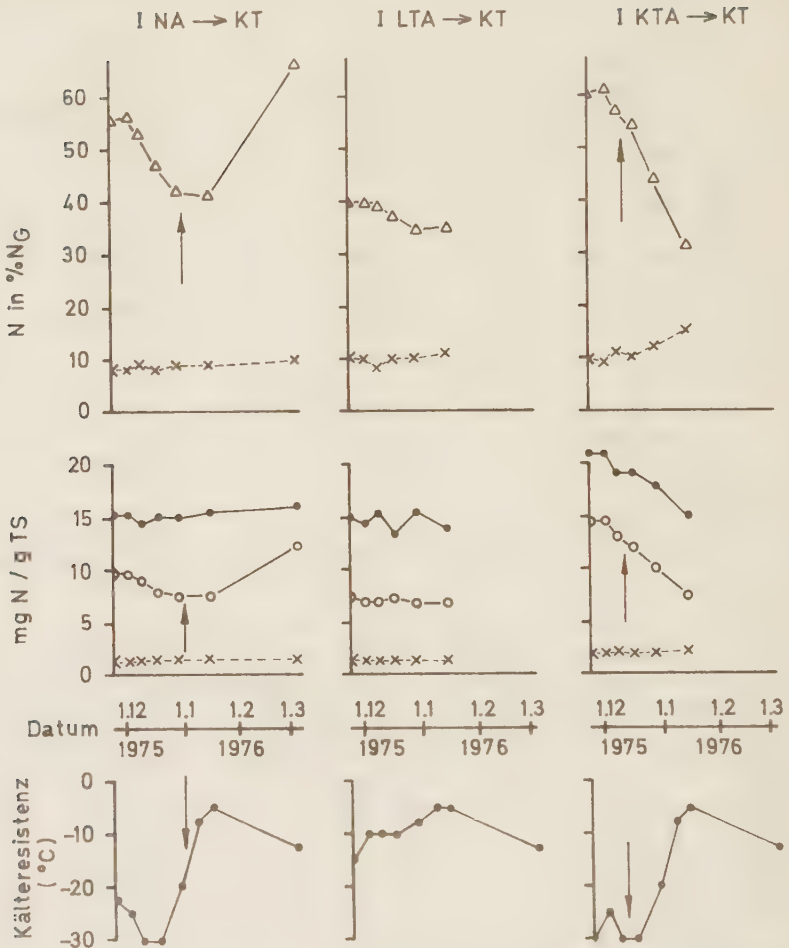


Abb. 32. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln von Freilandbäumen der Serie I bei Verwöhnung im Kurztag, von 24.11.1975 bis 5.3.1976. ●—● : N_G bzw. Kälteresistenz, x---x: N_{AL} , o—o und Δ — Δ : N_{BL} bzw. N_{BLP} der eingefrorenen Nadeln.

↑ : Zeitpunkt des Austriebs.

VERWÖHNUNG IN KT (SERIE II)

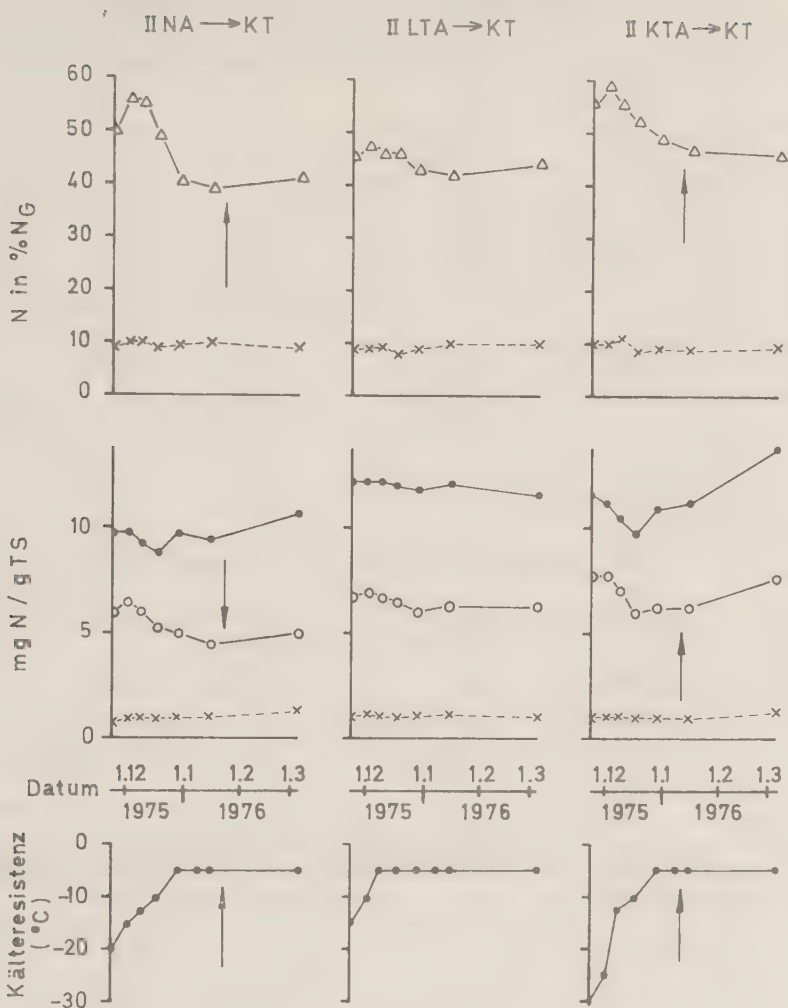


Abb. 33. N-Gehalt und Kälteresistenz der Nadeln von Freilandbäumen der Serie II bei Verwöhnung im Kurztag, von 24.11.1975 bis 5.3.1976. ●—● : N_G bzw. Kälteresistenz, ×—× : N_{AL} , ○—○ und △—△ : N_{BL} bzw. N_{BLP} der eingefrorenen Nadeln.
↑ : Zeitpunkt des Austriebs.

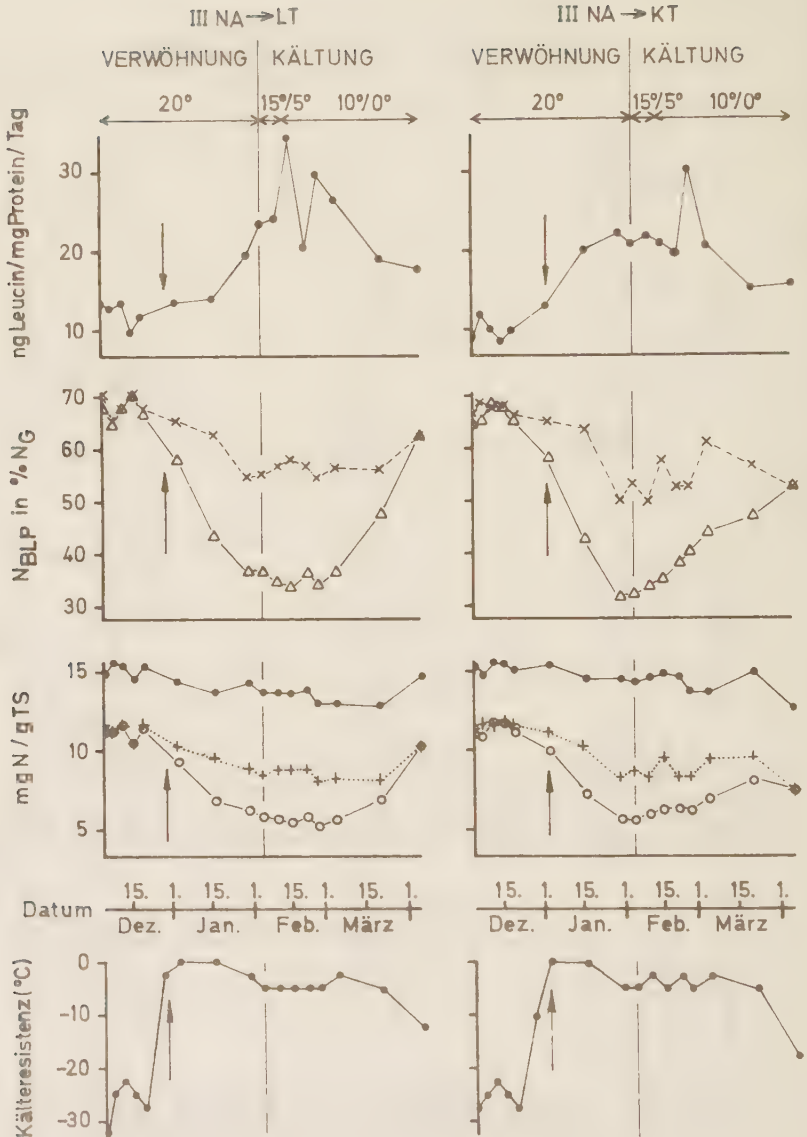


Abb. 34. N-Gehalt, Kälteresistenz und Leucineinbaurrate der Nadeln von NA-Freilandbäumen der Serie III bei Verwöhnung und anschließender Kältung im Lang- bzw. Kurztag, von 6.12.1976 bis 4.4.1977. Zeichenerklärung S.110.

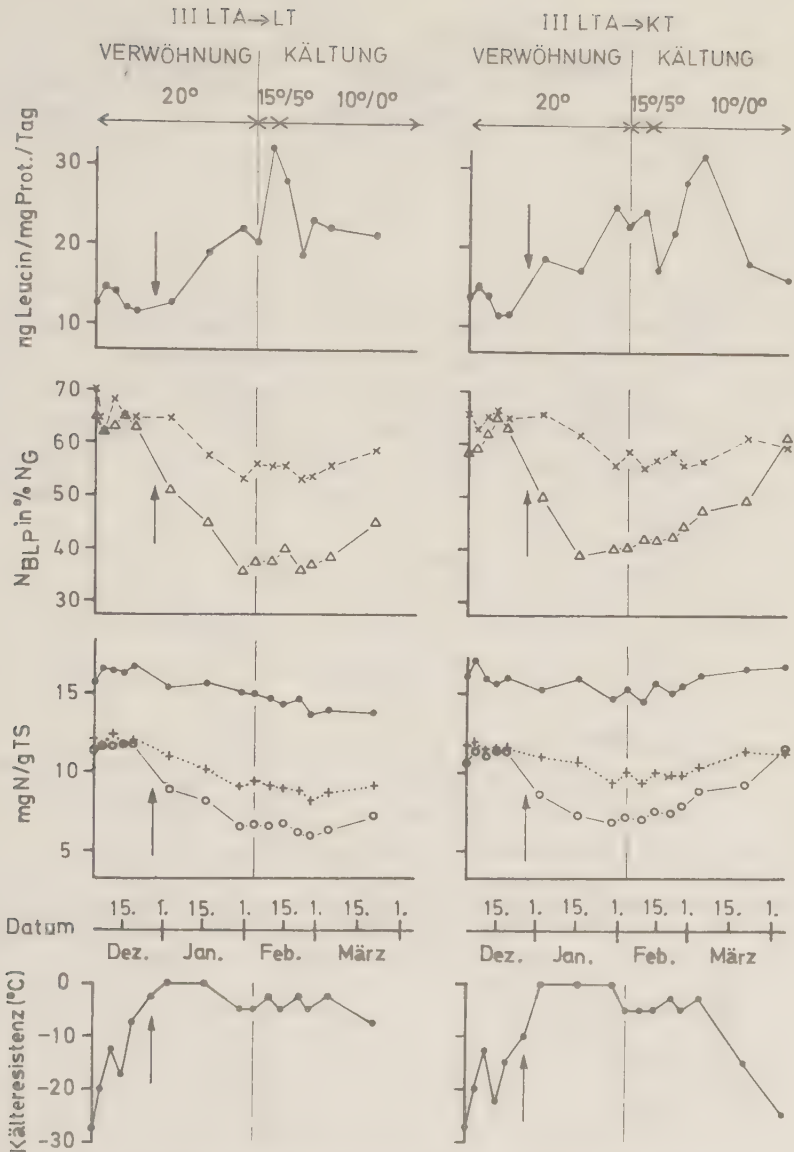


Abb. 35. N-Gehalt, Kälteressistenz und Leucineinbaurrate der Nadeln von LTA-Freilandbäumen der Serie III bei Verwöhnung und anschließender Kältung im Lang- bzw. Kurztage, von 6.12.1976 bis 4.4.1977. Zeichenerklärung S.110.

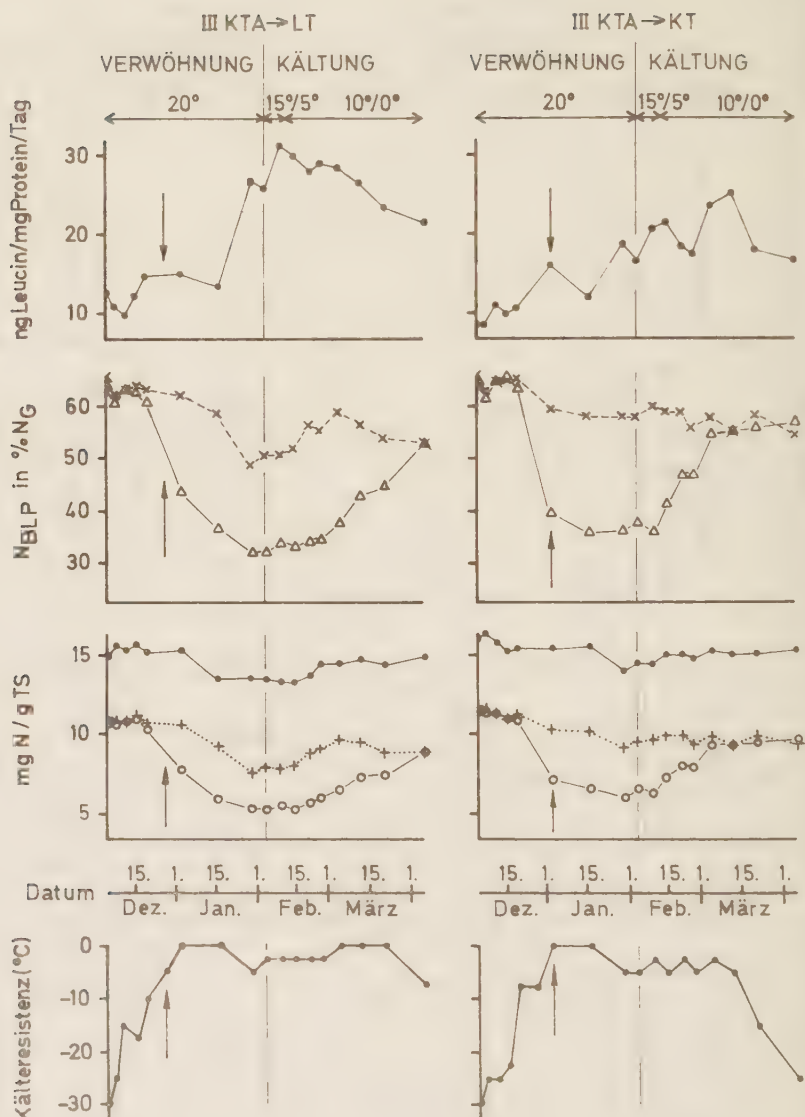


Abb. 36. N-Gehalt, Kälteresistenz und Leucineinbauraten der Nadeln von KTA-Freilandbäumen der Serie III bei Verwöhnung und anschließender Kältung im Lang- bzw. Kurztag, von 6.12.1976 bis 4.4.1977. Zeichenerklärung S.110.

Ich möchte Herrn Prof.Dr.O.Kandler für sein stetiges Interesse an meiner Arbeit, für anregende Diskussionen und für wertvolle Hinweise danken. Mein Dank gilt auch Frl.A.Heinz für ihre Assistenz bei mehreren der Versuche. Außerdem möchte ich Frl.Dr.M.Senser, Frau G.Willig und Herrn H.Steinert für ihre ständige Hilfsbereitschaft danken.

LEBENS LAUF

- | | |
|-------------|--|
| 12.10.1946 | Geboren in Nairobi, Kenia |
| 1951 - 1959 | Volksschule in Ancaster, Ontario,
Kanada |
| 1959 - 1965 | Gymnasium in Ancaster |
| 1965 - 1969 | Biologiestudium an der McMaster
University, Hamilton, Ontario, Kanada.
Abschluß mit B.Sc. |
| 1970 - 1971 | Technischer Assistent am Botanischen
Institut der Technischen Universität
München |
| 1971 - 1974 | Wiederaufnahme des Biologiestudiums
an der Technischen Universität München.
Abschluß mit Dipl.Biol. |
| Seit 1974 | Ausführung der vorliegenden Dissertation
am Botanischen Institut der Universität
München unter der Leitung von Prof.Dr.
O.Kandler |

